

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESEN

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

SCHÜSSLER, Andrea
HUBER & SCHÜSSLER
Patentanwälte
Truderinger Str. 246
81825 München
ALLEMAGNE

Huber & Schüssler
Patentanwälte

19. MRZ. 2001

Frist:

Absenddatum
(Tag/Monat/Jahr)

PCT

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG
DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNGSBERICHTS

(Regel 71.1 PCT)

16.03.2001

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts
K 2765 - sch/msl

WICHTIGE MITTEILUNG

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE99/03692

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)
17/11/1999

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
18/11/1998

Anmelder

DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM... et al.

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiermit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.

4. ERINNERUNG

Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde



Europäisches Patentamt
D-80298 München
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Pfitzner, G

Tel. +49 89 2399-8032



THIS PAGE BLANK (USPTO)

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT



(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2765 - sch/msl	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03692	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 17/11/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 18/11/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C07C237/10		
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM... et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
- ☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).
- Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☒ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 16/06/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 16.03.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Heibl, C Tel. Nr. +49 89 2399 8331 

THIS PAGE BLANK (USPTO)

I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1-21 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-17 ursprüngliche Fassung

Zeichnungen, Blätter:

1/2-2/2 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- ☐ Beschreibung, Seiten:
☐ Ansprüche, Nr.:
☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	4,6,8,12-14,
	Nein: Ansprüche	1-3,5,7,9-11,15-17
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	
	Nein: Ansprüche	1-17
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-17
	Nein: Ansprüche	

**2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt**

VI. Bestimmte angeführte Unterlagen

1. Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)

und / oder

2. Nicht-schriftliche Offenbarungen (Regel 70.9)

siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:
siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03692

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:
siehe Beiblatt

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Zu Punkt V-----

(Die verwendete Numerierung (D1,D2...) der zum Stand der Technik ermittelten Dokumente entspricht der Reihenfolge ihrer Auflistung im Internationalen Recherchenbericht.)

Neuheit (Art. 33(2) PCT)

D1 beschreibt das Aufpfropfen von Polyamidoamin-Einheiten mit Dendrimer-Struktur auf bestimmte Trägeroberflächen ('ultrafine silica surface'). Dazu wird zunächst die funktionelle Gruppe (= Aminogruppe) des betreffenden Trägermaterial mit Acrylsäuremethylester (MA) umgesetzt. Anschließend erfolgt die Weiterreaktion des so erhaltenen Zwischenprodukts mit einem geeigneten Alkylendiamin, z.B. Ethylendiamin. Diese zweistufige Reaktionfolge kann mehrmals wiederholt werden, wobei dann Dendrimer-Strukturen aufgebaut werden. Das MA kann dabei als 'Aktivierungsreagenz' angesehen werden, da es die ursprünglich vorhandene funktionelle Gruppe ($-NH_2$) des Trägermaterials für den chemischen Aufbau von Polyamidoamin-Seitenketten vorbereitet (siehe D1, gesamtes Dokument). Durch diesen Stand der Technik werden die Gegenstände der Ansprüche 1-3,5,7,9-11 und 15 neuheitsschädlich getroffen.

Nach analogem Prinzip beschreibt D3 die Derivatisierung von Trägeroberflächen, die Hydroxylgruppen als (primäre) funktionelle Gruppen aufweisen. Nach erster Umsetzung mit bspw. Trialkoxysilane erfolgt die weitere Umsetzung mit geeigneten Linkergruppen, vgl. D3, insb. Spalte 2, Z 15-31; Spalten 11-13; Fig. 1,2,8-11; Beispiele 1-5; Ansprüche. Die in D3 beschriebenen Träger sind geeignet zum Aufbau von Biopolymeren wie Peptiden, Oligonucleotiden etc., was eine (intermediäre) Anbindung an den Träger einschließt. Dadurch neuheitschädlich getroffen erscheinen zumindest die vorliegenden Ansprüche 1-3, 5 und auch 16-17.

Zu weiteren Offenbarungen zum Derivatisieren von Trägern bzw. deren funktioneller Gruppen auf der Trägeroberfläche siehe ferner:

D4 - die Figuren 19 (Seite 8152) und 25 (Seite 8156) mit den dazugehörigen Erläuterungen;

D5 - gesamtes Dokument, das die Oberflächenmodifizierung von aromatischen

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Polyamidträgern ('aramid') mittels Säurechloriden und anschließend mit 'functional polymers' (Diolen bzw. Bisaminen) beschreibt.

D6 - siehe Spalte 1, Zeilen 49-64 sowie die eigentliche Lehre der D6 in Spalte 3, Zeile 40 ff ('Detailed Invention' : ein Träger der Formel I wird mit CDI aktiviert und anschließend mit einer Amin-Komponente umgesetzt).

Die Gegenstände der verbleibenden Ansprüche erscheinen als im verfügbaren Stand der Technik nicht neuheitsschädlich vorbeschrieben.

Erfinderische Tätigkeit (Art. 33(3) PCT)

Sofern die Gegenstände der vorliegenden Ansprüche nicht schon durch den zitierten Stand der Technik neuheitsschädlich vorweggenommen sind, ist für die verbleibenden Varianten bzw. Ausführungsformen eine erfinderische Tätigkeit nicht ohne weiteres erkennbar. Das im Anspruch 1 definierte allgemeine Verfahrensprinzip kann jedenfalls im Lichte des ermittelten Standes der Technik logischerweise auch nicht mehr als erfinderisch angesehen werden. Gleiches gilt für den Träger, geeignet zur Anbindung von Biopolymeren gemäß Anspruch 15 sowie die entsprechende Verwendung gemäß den Ansprüchen 16 und 17. Neben dem oben genannten Entgegenhaltungen, sei in diesem Zusammenhang ferner auch auf D7, insb. Schema 1 mit entsprechenden Erläuterungen und D8, Seite 1557, linke Spalte, 2. Absatz, verwiesen. Bezüglich der Ansprüche 15-17 gilt auch D2, ggf. in Zusammenschau mit der Lehre der D1, als relevanter Stand der Technik.

Inwiefern in der vorliegenden Anmeldung offenbarte, ganz spezielle neue Verfahrensvarianten bzw. modifizierte Träger eventuell als erfinderisch im Licht des Standes angesehen werden könnten, ist derzeit nicht ohne weiteres erkennbar.

Zu Punkt VI -----

Auf das "P,X"-Dokument D9 und das "E"-Dokument D10 wird hingewiesen. Es stellt im Rahmen des PCT-Prüfungsverfahrens keinen Stand der Technik nach Art. 33 (2) und

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(3) dar (vgl. Regel 64 PCT).

Der Prioritätsanspruch der vorliegenden Anmeldung ist mangels Verfügbarkeit der Prioritätsdokumente nicht überprüft worden.

Zu Punkt VII-----

Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 a) ii) PCT wird in der vorliegenden Beschreibung der in den vorstehend zitierten relevanten Dokumenten offenbarte einschlägige Stand der Technik nicht angegeben.

Zu Punkt VIII-----

Abgesehen von der Tatsache, daß das im Anspruch 1 in allgemeinster Weise definierte Syntheseprinzip so nicht mehr neu ist, kann der Anspruchsumfang auch nicht als durch die Beschreibung gestützt (Art. 6 PCT) betrachtet werden. Vielmehr scheint der Umfang des Anspruches 1, insbesondere auch der der unabhängigen Ansprüche 15(!) und 16, wohl weit über das hinauszugehen, was tatsächlich in der vorliegenden Anmeldung in Form einer konkret fassbaren und durch Beispiele illustrierten technischen Lehre offenbart worden ist. In diesem Zusammenhang sei auch verwiesen auf die Stellungnahme zur Anspruchsbreite im Internationalen Recherchenbericht in 'Feld I.2'.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference K 2765 - sch/msl	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/DE99/03692	International filing date (day/month/year) 17 November 1999 (17.11.99)	Priority date (day/month/year) 18 November 1998 (18.11.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07C 237/10		
Applicant DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☒ Certain documents cited
- VII ☒ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 16 June 2000 (16.06.00)	Date of completion of this report 16 March 2001 (16.03.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

Apart from the fact that the synthesis principle defined in the most general manner in Claim 1 is no longer novel, the scope of the claim also cannot be considered to be supported by the description (PCT Article 6). Instead, the scope of Claim 1, in particular also that of dependent Claims 15(!) and 16 appears to go far beyond that which has in fact been disclosed in the present application in the form of a technical teaching which can be understood in concrete terms and is illustrated by means of examples. In this connection, the applicant should also refer to the opinion regarding the breadth of the claims in the international search report; see Box I.2.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE99/03692

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:
 pages 1-21, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the claims:
 pages 1-17, as originally filed
 pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the drawings:
 pages 1/2-2/2, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
 pages _____, as originally filed
 pages _____, filed with the demand
 pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	4, 6, 8, 12-14	YES
	Claims	1-3, 5, 7, 9-11, 15-17	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-17	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

(The numbering used (D1, D2 ...) for the searched prior art documents corresponds to the order in which they are listed in the international search report.)

Novelty (PCT Article 33(2))

D1 describes the grafting of polyamidoamine units comprising a dendrimer structure onto specific carrier surfaces ("ultrafine silica surface"). For this purpose, the functional group (amino group) of the relevant carrier material is initially reacted with acrylic acid methyl ester (MA) and subsequently the thus-obtained intermediate product is reacted further with a suitable alkylene diamine such as, for example, ethylene diamine. This two-stage reaction sequence can be repeated several times, and thus dendrimer structures are synthesised. The MA can be regarded as an "activating reagent" since it processes the functional group ($-NH_2$) of the carrier material that was originally present for the chemical synthesis of polyamidoamine side chains; see D1, the whole document. The subjects of Claims 1-3, 5, 7, 9-11 and 15 have been anticipated by this prior art document.

According to an analogous principle, D3 describes the

THIS PAGE BLANK (USPTO)

derivatisation of carrier surfaces which comprise hydroxyl groups as (primary) functional groups. After an initial reaction with trialkoxysilanes, for example, the further reaction takes place using suitable linker groups; see D3, in particular column 2, lines 15-31; columns 11-13; Figures 1, 2, 8-11; Examples 1-5; claims. The carriers described in D3 are suitable for synthesising biopolymers such as peptides, oligonucleotides, etc., which includes an (intermediate) bonding to the carrier. Consequently, at least the present Claims 1-3, 5 and 16-17 appear to have been anticipated.

As regards further disclosures concerning the derivatisation of carriers and their functional groups on the carrier surface, see also:

D4 - Figures 19 (page 8152) and 25 (page 8156) with the corresponding clarifications;

D5 - the whole document, which describes the surface modification of aromatic polyamide carriers ("aramide") by means of acid chlorides and subsequently with "functional polymers" (dioles and bisamines);

D6 - see column 1, lines 49-64 and the actual teaching of D6 in column 3, lines 40 ff. ("Detailed invention": a carrier of formula I is activated using CDI and subsequently reacted using an amine constituent).

The subjects of the remaining claims do not appear to have been previously defined in a manner prejudicial to novelty in the available prior art.

Inventive step (PCT Article 33(3))

Insofar as the subjects of the present claims have not already been anticipated in a manner prejudicial to

THIS PAGE BLANK (USPTO)

novelty by the cited prior art, an inventive step clearly cannot be acknowledged for the remaining variants and embodiments. The general principle of the process defined in Claim 1 can in any case logically also no longer be regarded as inventive in the light of the searched prior art. This applies analogously to the carrier which is suitable for bonding biopolymers as per Claim 15 and to the corresponding use as per Claims 16 and 17. As well as the aforementioned reference documents, the applicant should also refer in this connection to D7; see in particular Figure 1 with the corresponding clarifications and D8, page 1557, left-hand column, paragraph 2. As regards Claims 15-17, D2 - optionally in combination with the teaching of D1 - is also considered to be relevant prior art.

It is currently not clearly possible to recognise to what extent the quite special new process variants and modified carriers disclosed in the present application could possibly be regarded as inventive in the light of the prior art.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE99/03692

VI. Certain documents cited

1. Certain published documents (Rule 70.10)

Application No.
Patent No.

Publication date
(day/month/year)

Filing date
(day/month/year)

Priority date (valid claim)
(day/month/year)

See Supplemental Box

2. Non-written disclosures (Rule 70.9)

Kind of non-written disclosure

Date of non-written disclosure
(day/month/year)

Date of written disclosure
referring to non-written disclosure
(day/month/year)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/DE 99/03692

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: Box VI

The applicant should refer to the "P, X" document D9 and the "E" document D10. Those documents do not represent prior art (PCT Article 33(2) and (3)) within the context of the PCT examination procedure (PCT Rule 64).

The claim to priority of the present application has not been examined owing to the lack of availability of the priority documents.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Contrary to the requirements of PCT Rule 5.1(a)(ii) the relevant prior art disclosed in the relevant documents indicated in Box V has not been indicated in the description.

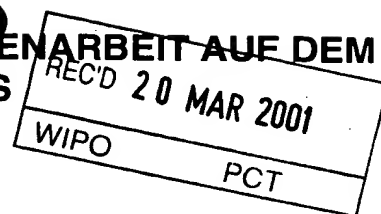
THIS PAGE BLANK (USPTO)

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)





Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2765 - sch/msl	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03692	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 17/11/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 18/11/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C07C237/10		
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM... et al.		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
 - ☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☒ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 16/06/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 16.03.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Heibl, C Tel. Nr. +49 89 2399 8331 

THIS PAGE BLANK (USPTO)

I. Grundlag des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1-21 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-17 ursprüngliche Fassung

Zeichnungen, Blätter:

1/2-2/2 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03692

- ☐ Beschreibung, Seiten:
☐ Ansprüche, Nr.:
☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	4,6,8,12-14,
	Nein: Ansprüche	1-3,5,7,9-11,15-17
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	
	Nein: Ansprüche	1-17
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-17
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt

VI. Bestimmte angeführte Unterlagen

1. Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)

und / oder

2. Nicht-schriftliche Offenbarungen (Regel 70.9)

siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:
siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03692

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:
siehe Beiblatt

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Zu Punkt V-----

(Die verwendete Numerierung (D1,D2...) der zum Stand der Technik ermittelten Dokumente entspricht der Reihenfolge ihrer Auflistung im Internationalen Recherchenbericht.)

Neuheit (Art. 33(2) PCT)

D1 beschreibt das Aufpfropfen von Polyamidoamin-Einheiten mit Dendrimer-Struktur auf bestimmte Trägeroberflächen ('ultrafine silica surface'). Dazu wird zunächst die funktionelle Gruppe (= Aminogruppe) des betreffenden Trägermaterial mit Acrylsäuremethylester (MA) umgesetzt. Anschließend erfolgt die Weiterreaktion des so erhaltenen Zwischenprodukts mit einem geeigneten Alkylendiamin, z.B. Ethylendiamin. Diese zweistufige Reaktionsfolge kann mehrmals wiederholt werden, wobei dann Dendrimer-Strukturen aufgebaut werden. Das MA kann dabei als 'Aktivierungsreagenz' angesehen werden, da es die ursprünglich vorhandene funktionelle Gruppe ($-NH_2$) des Trägermaterials für den chemischen Aufbau von Polyamidoamin-Seitenketten vorbereitet (siehe D1, gesamtes Dokument). Durch diesen Stand der Technik werden die Gegenstände der Ansprüche 1-3,5,7,9-11 und 15 neuheitsschädlich getroffen.

Nach analogem Prinzip beschreibt D3 die Derivatisierung von Trägeroberflächen, die Hydroxylgruppen als (primäre) funktionelle Gruppen aufweisen. Nach erster Umsetzung mit bspw. Trialkoxysilane erfolgt die weitere Umsetzung mit geeigneten Linkergruppen, vgl. D3, insb. Spalte 2, Z 15-31; Spalten 11-13; Fig. 1,2,8-11; Beispiele 1-5; Ansprüche. Die in D3 beschriebenen Träger sind geeignet zum Aufbau von Biopolymeren wie Peptiden, Oligonucleotiden etc., was eine (intermediäre) Anbindung an den Träger einschließt. Dadurch neuheitschädlich getroffen erscheinen zumindest die vorliegenden Ansprüche 1-3, 5 und auch 16-17.

Zu weiteren Offenbarungen zum Derivatisieren von Trägern bzw. deren funktioneller Gruppen auf der Trägeroberfläche siehe ferner:

D4 - die Figuren 19 (Seite 8152) und 25 (Seite 8156) mit den dazugehörigen Erläuterungen;

D5 - gesamtes Dokument, das die Oberflächenmodifizierung von aromatischen

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Polyamidträgern ('aramid') mittels Säurechloriden und anschließend mit 'functional polymers' (Diolen bzw. Bisaminen) beschreibt.

D6 - siehe Spalte 1, Zeilen 49-64 sowie die eigentliche Lehre der D6 in Spalte 3, Zeile 40 ff ('Detailed Invention' : ein Träger der Formel I wird mit CDI aktiviert und anschließend mit einer Amin-Komponente umgesetzt).

Die Gegenstände der verbleibenden Ansprüche erscheinen als im verfügbaren Stand der Technik nicht neuheitsschädlich vorbeschrieben.

Erfinderische Tätigkeit (Art. 33(3) PCT

Sofern die Gegenstände der vorliegenden Ansprüche nicht schon durch den zitierten Stand der Technik neuheitsschädlich vorweggenommen sind, ist für die verbleibenden Varianten bzw. Ausführungsformen eine erfinderische Tätigkeit nicht ohne weiteres erkennbar. Das im Anspruch 1 definierte allgemeine Verfahrensprinzip kann jedenfalls im Lichte des ermittelten Standes der Technik logischerweise auch nicht mehr als erfinderisch angesehen werden. Gleiches gilt für den Träger, geeignet zur Anbindung von Biopolymeren gemäß Anspruch 15 sowie die entsprechende Verwendung gemäß den Ansprüchen 16 und 17. Neben dem oben genannten Entgegenhaltungen, sei in diesem Zusammenhang ferner auch auf D7, insb. Schema 1 mit entsprechenden Erläuterungen und D8, Seite 1557, linke Spalte, 2.Absatz, verwiesen. Bezüglich der Ansprüche 15-17 gilt auch D2, ggf. in Zusammenschau mit der Lehre der D1, als relevanter Stand der Technik.

Inwiefern in der vorliegenden Anmeldung offenbarte, ganz spezielle neue Verfahrensvarianten bzw. modifizierte Träger eventuell als erfinderisch im Licht des Standes angesehen werden könnten, ist derzeit nicht ohne weiteres erkennbar.

Zu Punkt VI -----

Auf das "P,X"-Dokument D9 und das "E"-Dokument D10 wird hingewiesen. Es stellt im Rahmen des PCT-Prüfungsverfahrens keinen Stand der Technik nach Art. 33 (2) und

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(3) dar (vgl. Regel 64 PCT).

Der Prioritätsanspruch der vorliegenden Anmeldung ist mangels Verfügbarkeit der Prioritätsdokumente nicht überprüft worden.

Zu Punkt VII-----

Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 a) ii) PCT wird in der vorliegenden Beschreibung der in den vorstehend zitierten relevanten Dokumenten offenbarte einschlägige Stand der Technik nicht angegeben.

Zu Punkt VIII-----

Abgesehen von der Tatsache, daß das im Anspruch 1 in allgemeinster Weise definierte Syntheseprinzip so nicht mehr neu ist, kann der Anspruchsumfang auch nicht als durch die Beschreibung gestützt (Art. 6 PCT) betrachtet werden. Vielmehr scheint der Umfang des Anspruches 1, insbesondere auch der der unabhängigen Ansprüche 15(!) und 16, wohl weit über das hinauszugehen, was tatsächlich in der vorliegenden Anmeldung in Form einer konkret fassbaren und durch Beispiele illustrierten technischen Lehre offenbart worden ist. In diesem Zusammenhang sei auch verwiesen auf die Stellungnahme zur Anspruchsbreite im Internationalen Recherchenbericht in 'Feld I.2'.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

TENT COOPERATION TRE, Y

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 25 July 2000 (25.07.00)	
International application No. PCT/DE99/03692	Applicant's or agent's file reference K 2765 - sch/msl
International filing date (day/month/year) 17 November 1999 (17.11.99)	Priority date (day/month/year) 18 November 1998 (18.11.98)
Applicant BEIER, Markus	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

16 June 2000 (16.06.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No.: (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer</p> <p>Kiwa Mpay</p> <p>Telephone No.: (41-22) 338.83.38</p>
--	--

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2765N - sch/ms1	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE 99/ 03692	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 17/11/1999	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 18/11/1998
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG et al.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 6 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☒ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. _____

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☒ keine der Abb.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 1-3, 5 (teilweise)

Die Recherche ergab in ihrer Anfangsphase eine sehr große Zahl neuheitsschädlicher Dokumente. Diese Zahl ist so groß, daß sich unmöglich feststellen lässt, für was in der Gesamtheit der Patentansprüche eventuell nach zu Recht Schutz begehrt werden könnte (Art. 6 PCT).

Aus diesen Gründen erscheint die Durchführung einer sinnvollen Recherche und/oder die Erstellung eines vollständigen Recherchenberichtes bezüglich des gesamten Umfangs der oben genannten Patentansprüche unmöglich. Die durchgeführte Recherche und der Recherchenbericht für diese Ansprüche kann nur als vollständig gelten für die Beispiele des Antrags.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. KLASSTIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C07C237/10 C07C275/14 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07C C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	TSUBOKAWA N ET AL: "Grafting of 'dendrimer-like' highly branched polymer onto ultrafine silica surface" REACTIVE & FUNCTIONAL POLYMERS,NL,ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV, Bd. 37, Nr. 1-3, 1. Juni 1998 (1998-06-01), Seiten 75-82, XP004127869 ISSN: 1381-5148	1-3,5,7, 9-11
Y	Seite 79 --- -/--	15-17



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

25. Oktober 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

06/11/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

de Nooy, A

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	TAM J P: "SYNTHETIC PEPTIDE VACCINE DESIGN: SYNTHESIS AND PROPERTIES OF A HIGH-DENSITY MULTIPLE ANTIGENIC PEPTIDE SYSTEM" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA,US,NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. WASHINGTON, Bd. 85, 1. August 1988 (1988-08-01), Seiten 5409-5413, XP002070407 ISSN: 0027-8424 das ganze Dokument	15-17
X	US 5 624 711 A (SUNDBERG STEVEN A ET AL) 29. April 1997 (1997-04-29) Figur 10	1-3,5
X	TERRETT N K ET AL: "COMBINATIONRIAL SYNTHESIS - THE DESIGN OF COMPOUND LIBRARIES AND THEIR APPLICATION TO DRUG DISCOVERY" TETRAHEDRON,NL,ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, Bd. 51, Nr. 30, 24. Juli 1995 (1995-07-24), Seiten 8135-8173, XP000644580 ISSN: 0040-4020 Seite 8152, Figur 19 Seite 8156, Figur 25	1-3,5
X	TSUBOKAWA N ET AL: "SURFACE-GRAFTING ONTO ARAMID POWDER: REACTION OF ACYL CHLORIDE GROUPS ON THE SURACE WITH FUNCTIONAL POLYMERS HAVING TERMINAL HYDROXYL OR AMINO GROUPS" POLYMERS FOR ADVANCED TECHNOLOGIES,GB,JOHN WILEY AND SONS, CHICHESTER, Bd. 5, Nr. 12, 1. Dezember 1994 (1994-12-01), Seiten 824-828, XP000485330 ISSN: 1042-7147 Seite 825, linke Spalte	1,5
X	US 4 837 348 A (STOLOWITZ MARK L ET AL) 6. Juni 1989 (1989-06-06) Spalte 1, Zeile 49 - Zeile 64	1,5
	--- -/--	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	SWALI V ET AL: "SOLID-PHASE DENDRIMER SYNTHESIS AND THE GENERATION OF SUPER-HIGH-LOADING RESIN BEADS FOR COMBINATORIAL CHEMISTRY" JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, EASTON, US, Bd. 62, Nr. 15, 1997, Seiten 4902-4903, XP000901550 ISSN: 0022-3263 Seite 4903 ---	1, 14
A	KEVIN BURGESS ET AL: "Solid phase syntheses of Oligoureas" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, Bd. 119, Nr. 7, 19. Februar 1997 (1997-02-19), Seiten 1556-1564, XP002115550 ISSN: 0002-7863 Seite 1558 -Seite 1559 ---	1, 14
P, X	M BEIER ET AL: "Versatile derivatisation of solid support media for covalent bonding on DNA-microchips" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, Bd. 27, Nr. 9, 1999, Seiten 1970-1977, XP002145887 ISSN: 0305-1048 das ganze Dokument ---	1-17
E	WO 00 02656 A (ALPER HOWARD ; ARYA PRABHAT (CA); JEFFERSON GARY (CA); BOURQUE SHEI) 20. Januar 2000 (2000-01-20) Seite 14 -Seite 15 -----	1-3, 5, 7, 9-11

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/DE 99/03692

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5624711	A	29-04-1997	US 5919523 A	06-07-1999
US 4837348	A	06-06-1989	EP 0265495 A	04-05-1988
			WO 8706586 A	05-11-1987
WO 0002656	A	20-01-2000	NONE	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ : C07C 237/10, 275/14, C12Q 1/68	A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/29373 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 25. Mai 2000 (25.05.00)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE99/03692 (22) Internationales Anmeldedatum: 17. November 1999 (17.11.99) (30) Prioritätsdaten: 198 53 242.3 18. November 1998 (18.11.98) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS [DE/DE]; Im Neuenheimer Feld 280, D-69120 Heidelberg (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BEIER, Markus [DE/DE]; Werderstrasse 42a, D-69120 Heidelberg (DE). (74) Anwalt: SCHÜSSLER, Andrea; Huber & Schüssler, Truderinger Strasse 246, D-81825 München (DE).	(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>	
(54) Title: DERIVATISATION OF SUPPORT SURFACES (54) Bezeichnung: DERIVATISIERUNG VON TRÄGEROBERFLÄCHEN (57) Abstract <p>The invention relates to a method for derivatising supports. A functional group is activated on the surface of a support by reaction with an activating reagent and then reacted with an amine component. The invention also relates to a support with a dendrimer structure on its surface and to the use of a support that has been produced according to the invention for binding biopolymers.</p> (57) Zusammenfassung <p>Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zum Derivatisieren von Trägern, wobei eine funktionelle Gruppe auf einer Trägeroberfläche durch Umsetzung mit einem Aktivierungsreagenz aktiviert wird und nachfolgend mit einer Amin-Komponente umgesetzt wird. Weiter betrifft die Erfindung einen Träger mit Dendrimerstruktur an seiner Oberfläche sowie die Verwendung eines erfindungsgemäß hergestellten Trägers zur Anbindung von Biopolymeren.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshjan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauritanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

Derivatisierung von Trägeroberflächen

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Derivatisierung von Trägeroberflächen sowie dadurch derivatisierte Trägeroberflächen.

Die Anbindung von Biopolymeren, insbesondere Nukleinsäuren, an feste Trägeroberflächen wird bis heute im allgemeinen durch folgende Alternativen erreicht:

1) Aufbringen von Biopolymeren (z.B. Nukleinsäuren) auf Oberflächen: Hier finden vor allem poly-L-Lysin gecoatete Glasträger und Nylon-Membranen Verwendung. Dabei werden die Biopolymere durch Ladung an den Träger gebunden. Nachteilig bei der Verwendung poly-L-Lysin gecoateter Glasträger ist, daß keine kovalente Anknüpfung zwischen der beschichteten Oberfläche und dem Biopolymer stattfindet. Der Träger kann nur einmalig verwendet werden. Weiter gibt es so gut wie keine Möglichkeiten zur Optimierung des Abstandes zwischen Biopolymer und Träger. Nachteilig bei der Verwendung von Nylonmembranen ist, daß die Biopolymere größtenteils auch nur durch Ladung gebunden werden. Der Träger kann zwar mehrmalig verwendet werden, aber es ist auch keine Optimierung des Abstandes zwischen Biopolymer und Träger möglich.

2) In-situ Aufbau von Biopolymeren (z.B. Nukleinsäuren) auf Oberflächen: Hier finden gebräuchliche Linkersysteme, die von der Biopolymersynthese an porösen CPG-Materialien herrühren, Verwendung. Bei den verwendeten Linkermolekülen handelt es sich meist um Polyethylenglykol, insbesondere Tetra- oder Hexaethylenglykol. Die Linkermoleküle werden üblicherweise durch kostenintensive

Reagenzien analog der Phosphoramidit-Chemie aufgebracht. Es kann leider keine Massenherstellung stattfinden und das Aufbringen von Ladungen ist nicht möglich.

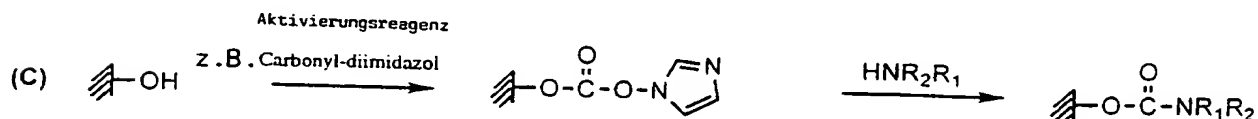
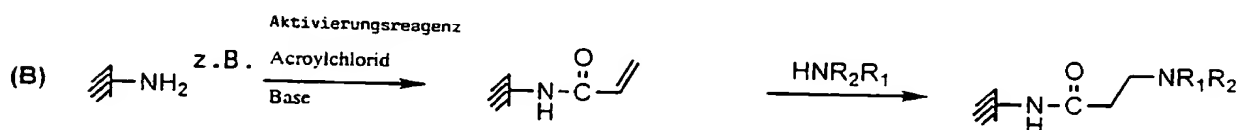
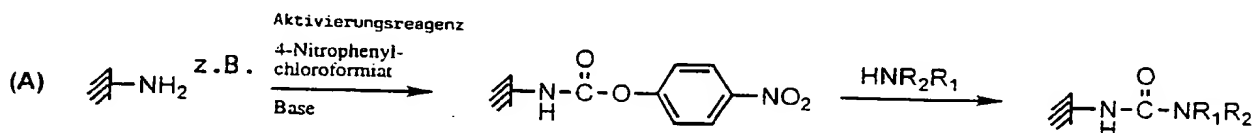
Weiter haben diese Verfahren alle den Nachteil, daß es ihnen an Flexibilität mangelt, und die Biopolymere können auf der Oberfläche nur in einer sehr begrenzten Anzahl aufgebracht werden.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht nun darin, ein Verfahren bereitzustellen, das eine optimale Anbindung von einer großen Anzahl Biopolymeren an Trägeroberflächen erlaubt. Die Aufgabe besteht weiter darin, eine Trägeroberfläche bereitzustellen, deren Bindungskapazität auf ein Vielfaches durch Durchführen einer Oberflächenmodifikation gesteigert worden ist.

Diese Aufgaben werden durch die Gegenstände der Patentansprüche gelöst.

Insbesondere wird diese Aufgabe durch ein Verfahren gelöst, bei dem eine funktionelle Gruppe auf einer Trägeroberfläche durch ein Aktivierungsreagenz aktiviert und nachfolgend mit einer Amin-Komponente umgesetzt wird.

Dem erfindungsgemäßen Verfahren liegen bevorzugt folgende Synthese-Prinzipien zugrunde:



wobei R_1 und R_2 gleich oder verschieden sein können. Die Bedeutungen von R_1 und R_2 unterliegen keiner Beschränkung und können H oder jeglicher organischer Rest sein (z.B. ein gerader oder verzweigter Alkylrest mit 1-30 Kohlenstoffatomen, ein gerader oder verzweigter Alkenylrest mit 2 bis 30 Kohlenstoffatomen, ein mono- oder polyzyklischer Alkylrest mit 3 bis 30 Kohlenstoffatomen oder ein mono- oder polyzyklischer Alkenylrest mit 4 bis 30 Kohlenstoffatomen oder einen mono- oder polyzyklischen Rest mit 6 bis 30 Kohlenstoffatomen, wobei die Reste ggf. durch einen oder mehrere Substituenten (z.B. OH, Carboxyl, Carbonyl, Phosphat-) substituiert sein können). Die Base kann jegliche basische Verbindung sein, z.B. Diisopropylethylamin.

Es kann jeder beliebige gerade oder verzweigte C_{1-30} -Alkylrest verwendet werden. Beispiele hierfür sind Methyl-, Ethyl-, Propyl-, Isopropyl-, Butyl-, Isobutyl-, tert.-Butyl-, n-Butyl-, n-Hexyl-, 2-Methylpentyl-, 2,3-Dimethylbutyl-, n-Heptyl-, 2-Methylhexyl-, 2,2-Dimethylpentyl-, 3,3-Dimethylpentyl-, 3-Ethylpentyl-, n-Octyl-, 2,2-Dimethylhexyl-, 3,3-Dimethylhexyl-, 3-Methyl-3-ethylpentylgruppen. Bevorzugt sind kurze Alkylketten, wie Methyl-, Ethyl-, Propyl- und Isopropyl-.

Es kann jeder beliebige gerade oder verzweigte C_{2-30} -Alkenylrest verwendet werden. Beispiele hierfür sind Vinyl-, Propenyl-, Isopropenyl-, Allyl-, 2-Methylallyl-, Butenyl- oder Isobutenyl-, Hexenyl- oder Isohexenyl-, heptenyl- oder Isoheptenyl-, Octenyl- oder Isooctenylgruppen. Bevorzugt sind Vinyl-, Propenyl- und Isopropenyl-.

Der Cycloalkylrest mit 3 bis 30 Kohlenstoffatomen kann jeder beliebige Cycloalkylrest sein. Beispiele hierfür sind eine Cyclopropyl-, Cyclobutyl-, Cyclopentyl- oder Cyclohexyl-, Cycloheptyl-, Cyclooctyl-, Cyclononyl- oder Cyclodecylgruppen. Bevorzugt sind Cyclopropyl-, Cyclobutyl-, Cyclopentyl- und Cyclohexyl-.

Der Cycloalkenylrest mit 4 bis 30 Kohlenstoffatomen kann jeder beliebige Cycloalkenylrest sein. Beispiele hierfür sind eine Cyclobutenyl-, Cyclopentenyl- oder Cyclohexenyl-, Cycloheptenyl-, Cyclooctenyl-, Cyclononenyl- oder Cyclodecenylgruppen. Bevorzugt sind Cyclobutenyl-, Cyclopentenyl- oder Cyclohexenyl.

Beispiele für polyzyklische Alkyl- bzw. Alkenylreste umfassen Norbornan, Adamantan oder Benzvalen.

R₁ und R₂ können ferner beliebige mono- oder polycyclische C₆-30- Arylreste sein. Beispiele hierfür sind ein carbocyclischer, monocyclischer Rest, beispielsweise die Phenylgruppe, ein heterocyclischer, monocyclischer Rest, beispielsweise die Gruppen Thienyl, Furyl, Pyranyl, Pyrrolyl, Imidazolyl, Pyrazolyl, Pyridyl, Pyrazinyl, Pyrimidinyl, Pyrazinyl, Thiazolyl, Oxazolyl, Furazannyl, Pyrrolinyl, Imidazolinyl, Pyrazolinyl, Thiazolinyl, Triazolyl, Tetrazolyl, sowie die Positionsisomeren des oder der Heteroatome, die diese Gruppen umfassen können.

Durch das erfindungsgemäße Verfahren entstehen an der Trägeroberfläche mehr oder weniger vernetzte Linkersysteme, die die Anbindung einer ggf. großen Anzahl von Biopolymeren an die Trägeroberfläche erlauben. Bevorzugte Biopolymere sind DNA, RNA, Nucleinsäureanaloga, Peptide, Proteine, Antikörper etc.

Erfindungsgemäß soll unter einer funktionellen Gruppe eine auf einer Trägeroberfläche befindliche chemische Gruppierung, wie z.B. eine Amino-Gruppe, Hydroxyl-Gruppe, Carboxyl-Gruppe, Carbonyl-Gruppe, Thiol-, Amid- oder Phosphat-Gruppe verstanden werden.

Erfindungsgemäß ist jegliche(r) auf diesem Gebiet übliche Träger bzw. Matrix einsetzbar. Dies sind insbesondere Glas, Folien bzw. Membranen aus Polypropylen, Nylon, Cellulose, Cellulosederivate (z.B. Celluloseacetat, Cellulose-Mischester), Polyethersulfonen, Polyamiden, Polyvinylchlorid, Polyvinylidenfluorid, Polyester, Teflon oder Polyethylen.

Erfindungsgemäß soll unter einem Aktivierungsreagenz ein Reagenz verstanden werden, das auf der Trägeroberfläche befindliche funktionelle Gruppen in einen ankopplungsbereiten Zustand versetzt. Bevorzugte Aktivierungsreagenzien sind 4-Nitrophenyl-Chloroformiat (= Chlorameisensäure-4-nitrophenylester), Carbonyldiimidazol, Acryloylchlorid (Acrylsäurechlorid), Phenylchloroformiat, Phosgen, Diphosgen, Triphosgen, EDC (N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid-hydrochlorid), N,N'-Diisopropyl-carbodiimid, Dicylohexyl-carbodiimid, Disuccinimidyl-carbonat, Disuccinimidyl-oxalat, Dimethylsuberimidatdihydrochlorid oder Phenylendiisothiocyanat, wobei die drei erstgenannten am bevorzugtesten sind.

Erfindungsgemäß sollen unter einer Amin-Komponente Monoamine, Bis-Amine oder Polyamine verstanden werden. Bevorzugte Monoamine sind 2-Aminoethanol, 6-Amino-1-hexanol, 2-(4-Aminophenyl)-ethanol, 5-Amino-n-valeriansäure, 2-(2-Aminoethoxy)ethanol, 3-Amino-1,2-propandiol; bevorzugte Bis-Amine sind 1,4-Bis(3-aminopropoxy)butan, O,O'-Bis(2-aminopropyl)polyethylenglykol 500 (= Jeffamin 500), O,O'-Bis(2-aminopropyl)polyethylenglykol 130 (= Jeffamin 130), 4,7,10-Trioxa-1.13-tridecanamin, Ethylendiamin, N-Methylimidazol, Diisopropylethylamin; und bevorzugte Polyamine sind Tetraethylenpentamin, Spermin, Spermidin, 4,7,10-Trioxa-1.13-tridecandiamin, 4-Aminomethyl-1,8-octandiamin. Durch den Einbau von Aminen können bevorzugt positive Ladungen in das Linkersystem implementiert werden, da diese im physiologischen Bereich protoniert vorliegen. Durch die Wahl des entsprechenden Amins läßt sich der Grad der Ladung der Oberfläche steuern. Positive Ladungen ihrerseits bewirken eine leichtere Annäherung von negativ geladenen Biopolymeren (z.B. Nukleinsäuren) und erleichtern dadurch Hybridisierungen auf den erfindungsgemäß behandelten Trägeroberflächen. Bei der Verwendung von Bis-Aminen oder Polyaminen kann die Kettenlänge, d.h. die Länge des Linker-Systems, durch die Länge des Amins und die Anzahl des wiederholten Durchlaufens der nachfolgend angegebenen Synthese-Prinzipien gesteuert werden. Durch die

Wahl des Amins kann der individuelle Charakter des Linkersystems gesteuert werden, d.h. ob es eher hydrophob oder hydrophil ist. Durch die Wahl des Amins können neben Amingrupperierungen natürlich auch andere funktionelle Gruppen (z.B. Hydroxyl-, Phosphat-, Carboxyl-, Carbonyl-) auf der Oberfläche präsentiert werden. So ist es beispielsweise für die Einführung eines OH-Gruppen tragenden Linkers vorteilhaft die Umsetzung mit einem Aminalkohol durchzuführen. Bei Verwendung eines bifunktionellen Amins erfolgt eine lineare Verlängerung der Kette. Durch polyfunktionelle Amin-Reagentien werden in das Linkersystem Verzweigungen eingebaut. Dadurch werden sogenannte Dendrimer-Strukturen aufgebaut (s. Fig. 1 und 2). Unter einer Dendrimer-Struktur soll erfindungsgemäß verstanden werden, daß von einem definierten Startpunkt ausgehende mehr als einmal verzweigte Strukturen entstehen. Dies hat vor allem den Vorteil, daß bei Trägermaterialien mit ansonsten geringer Beladungskapazität (z.B. Glas) die Beladung gezielt erhöht werden kann und somit größere Mengen an Biopolymeren aufgebracht werden können. So können bei der Verwendung von polyfunktionellen Aminen (m = Anzahl der Amino-Funktionen) nach n Runden (1 Runde = Zyklus aus Aktivierung und Umsetzung mit Amin) x Positionen (Funktionen) für eine Anbindung von Biopolymeren genutzt werden:

$$x = (m-1)^n \quad (\text{im Falle der Aktivierung mit 4-Nitrophenyl-Chloroformiat oder Carbonyldiimidazol})$$

$$x = m^n \quad (\text{im Falle der Aktivierung mit Acryloylchlorid})$$

Rechenbeispiel: Tetraethylenpentamin ($m = 5$), 3 Runden ($n = 3$), Acryloylchlorid als Aktivierungsmittel $\rightarrow 5^3 = 125$, d.h. 125-fache Beladungskapazität des Trägers

Um auf der Trägeroberfläche zu einem mehr oder weniger vernetzten Linkersystem zu kommen, werden die obigen Reaktionen gezielt wiederholt. Hierdurch wird der Abstand zwischen

Trägermaterial und dem anzubindenden Biopolymer gesteuert und auch die physikalischen Eigenschaften des Linkers bestimmt. Durch das erfindungsgemäße Verfahren wird ein flexibles Linkersystem geschaffen. Flexibel insofern, daß für jegliche Anwendung (z.B. Anbindung von DNA, RNA, Proteine, Antikörper) ideal vorbereitete Trägeroberflächen zur Verfügung gestellt werden. Insbesondere eignet sich das erfindungsgemäße Verfahren dazu, für die DNA-/Bio-Chip-Technologie geeignete Oberflächen (Träger) bereitzustellen. Der Grad der positiven Ladung auf der Oberfläche läßt sich durch die Anzahl der protonierbaren Amin-Funktionen, vor allem durch den Einbau von Polyaminen, steuern. So wird das Ziel der Erhöhung der Beladungsdichte vorzugsweise durch den Einbau von Verzweigungsstellen (z.B. Polyaminen) realisiert; die Erhöhung der positiven Oberflächenladung kann beispielsweise durch den Einbau protonierbarer Amino-Funktionen geschehen; die Variation der Distanz zwischen Biomolekül und Oberfläche kann durch die Verwendung Amine verschiedener Kettenlänge gesteuert werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren zur Oberflächenmodifizierung zeichnet sich durch folgende Schritte aus. Die zu derivatisierenden Trägermaterialien werden in einem Reaktionsgefäß mit 5-100 ml (je nach Größe), bevorzugt 10-30 ml, ganz bevorzugt 20 ml, wasserfreiem Lösungsmittel (z.B. Dichlorethan, Tetrachlorkohlenstoff, THF, DMF, DMSO, HMPT (=HMPA), Dichlorethan, Acetonitril) mit ca. 0,5 bis 5 mmol, bevorzugt 1-3 mmol, ganz bevorzugt 1 mmol, Aktivierungsreagenz (z.B. Acryloylchlorid, 4-Nitrophenylchloroformiat, Carbo-nyldiimidazol) versetzt. Die Umsetzung wird im Falle von Acryloylchlorid und 4-Nitrophenyl-chloroformiat durch Zugabe von ca. 0,5 bis 5 mmol, bevorzugt 1-3 mmol, ganz bevorzugt 1 mmol, Diisopropylethylamin (oder einer anderen nicht nukleophilen Base, wie Triethylamin, Pyridin, Collidin, Lutidin oder Triisopropylamin) gestartet. Nach 1 bis 4 Stunden, bevorzugt 2 Stunden, Schwenken auf einem Schüttler werden die Träger gründlich mit einem wasserfreien Lösungsmittel (z.B. Dichlorethan, Tetrachlorkohlenstoff, etc.)

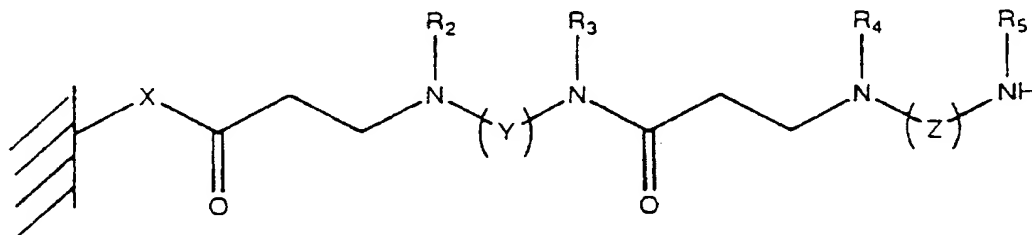
gewaschen und trocknen gelassen, vorzugsweise mit Stickstoff trockengeblasen. Zur Überprüfung der Reaktion wird eine Qualitätskontrolle durchgeführt. Beispielsweise wird das oben erwähnte aminierte PP-Kontrollstück dem nachfolgend beschriebenen Bromphenolblau-Test unterzogen. Ist keine Blaufärbung im Vergleich zu einer nicht umgesetzten Probe zu erkennen, ist die Aktivierung erfolgreich verlaufen. Tritt eine Blaufärbung auf, wird die Umsetzung wiederholt. Die nun aktivierten Trägermaterialien werden in ca. 5-100 ml (je nach Größe), bevorzugt 10-50 ml, ganz bevorzugt 20 ml eines amin- und wasserfreien Lösungsmittels (z.B. DMF, Acetonitril, THF, DMSO, HMPT (HMPA) oder Dichlormethan) mit ca. 0,5-5 mmol, bevorzugt 1-3 mmol, bevorzugt 1 mmol, Amin-Komponente versetzt und ca. 5 - 20 Stunden, bevorzugt über Nacht, geschwenkt. Man wäscht gründlich, z.B. nacheinander mit DMF, Methanol und Dichlorethan, und läßt die nun derivatisierten Träger trocknen bzw. bläst vorzugsweise mit Stickstoff trocken. Im Falle von mit Acryloylchlorid aktivierten Trägern empfiehlt sich eine auf 1,5 bis 2,5 Tage, bevorzugt 2 Tage, verlängerte Reaktionszeit. Zur Überprüfung der Reaktion wird eine Qualitätskontrolle durchgeführt, beispielsweise wird das oben erwähnte PP-Kontrollstück dem nachfolgend beschriebenen Bromphenolblau-Test unterzogen. Ist die Blaufärbung im Vergleich zu einer aktivierten Probe des letzten Schritts zu erkennen, ist die Umsetzung erfolgreich verlaufen. Bei keiner oder sehr schwacher Blaufärbung wird die Umsetzung wiederholt. Die nun einmal derivatisierten Träger können bereits so verwendet werden oder noch ein- oder mehrmals dem beschriebenen Zyklus unterzogen werden.

Zur Qualitätsüberprüfung der Trägerderivatisierung eignet sich beispielsweise ein Verfahren basierend auf der Blaufärbung von Aminofunktionen durch Bromphenolblau, d.h. die Detektion erfolgt über das Verschwinden bzw. Vorhandensein der Blaufärbung bei Aktivierung bzw. Umsetzung mit Aminen. Dazu wird jedem Reaktionsgefäß zusätzlich zu den zu derivatisierenden Trägermaterialien ein Stück aminierte Polypropylen-Folie (PP-Kontrollstück) beigelegt, an der

stellvertretend für alle in dem Reaktionsgefäß befindlichen Trägermaterialien der Erfolg des jeweiligen Reaktionsschritts überprüft wird. Hierzu wird nach jeder Reaktion ein Stück des Kontrollstreifens entnommen und 2 Minuten in einer 1% Bromphenolblau-Lösung in aminfreiem DMF geschwenkt und dann mit Ethanol gewaschen. Amino-Funktionen und andere basische Gruppen ergeben hierbei eine intensive adsorptive Blaufärbung. Nach der Durchführung der Aktivierungsreaktionen (z.B. mit Acryloylchlorid, 4-Nitrophenylchloroformiat, Carbonyldiimidazol) wird auf Verschwinden der Blaufärbung detektiert. Eine Quantifizierung der Oberflächenbeladung ist über UV-Spektroskopie möglich. Hierbei wird die adsorptive Blaufärbung z.B. mit einer 10%-igen Piperidin-Lösung in DMF von Träger abgelöst und UV-spektroskopisch vermessen.

Die Linker an der Trägeroberfläche weisen lineare Strukturen oder Dendrimer-Strukturen auf. Die Strukturen haben folgenden Aufbau:

- bevorzugte Struktur nach Aktivierung mit Acryloylchlorid



X = O, NHR₁

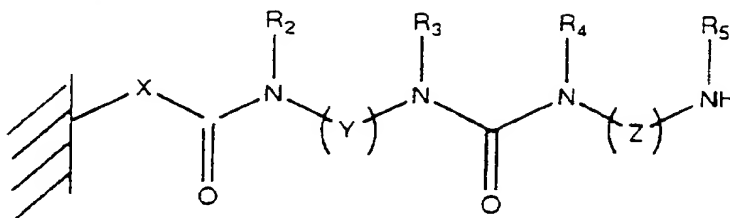
Y, Z = können gleich oder verschieden sein und können ausgewählt sein aus
 - (CH₂)_n -
 - (CH₂CH₂O)_n-CH₂CH₂
 - (CH₂CH₂CH₂O)_n-CH₂CH₂CH₂- usw.

R₁-R₅ = können gleich oder verschieden sein
 analog R₁ und R₂ vorstehend

n = 1-50, bevorzugt 1-20, ganz bevorzugt 1-10

oder

- bevorzugte Struktur nach Aktivierung mit Chlorameisensäure-nitrophenylester bzw. Carbonyldiimidazol

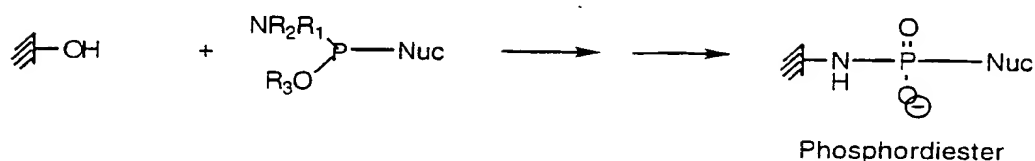
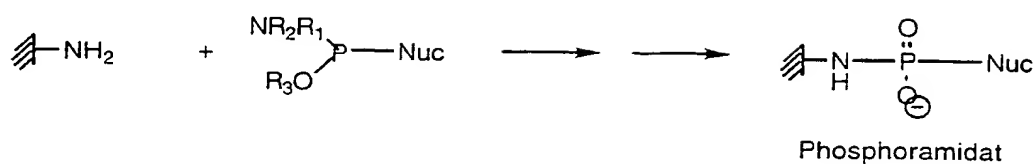
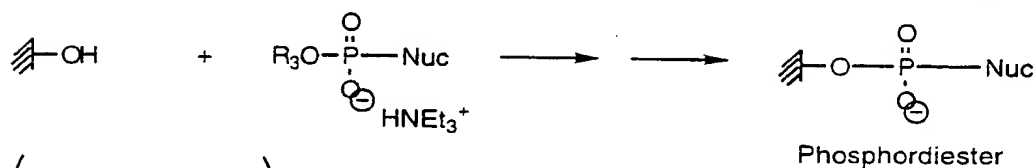
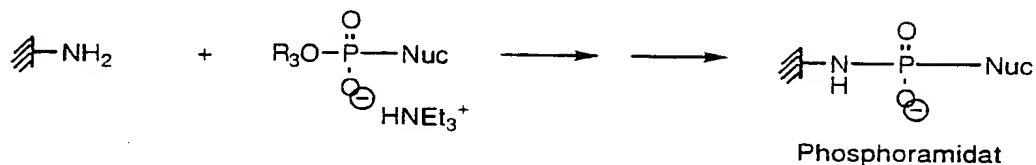


- X = O, NHR₁
 Y, Z = können gleich oder verschieden sein und können ausgewählt sein aus
 - (CH₂)_n -
 - (CH₂CH₂O)_n-CH₂CH₂
 - (CH₂CH₂CH₂O)_n-CH₂CH₂CH₂- usw.
 R₁-R₅ = können gleich oder verschieden sein analog R₁ und R₂ vorstehend
 n = 1-50, bevorzugt 1-20, ganz bevorzugt 1-10

Bei der Fixierung von Biopolymeren an die mit dem Linkersystem derivatisierten Trägeroberfläche können prinzipiell 2 Fälle (a) und (b) unterschieden werden :

- (a) In situ-Synthese von Biopolymeren (am Beispiel der Oligonukleotidsynthese):

Die derivatisierten Träger-Oberflächen mit endständigen Amino- oder Hydroxyl-Funktionen bedürfen keiner weiteren Modifizierung zur Anbindung des 1. Oligonucleotidbausteins nach der Phosphoramidit- oder auch Phosphortriester-Methode. Es werden nach der Reaktion des 1. Nucleotid-Reagenzes mit der aminierten Oberfläche Bindungen vom Phosphoramidat-Typ erzeugt. Hydroxylierte Oberflächen führen zu Bindungen vom Phosphodiester-Typ.

Phosphoramidit-Methode :Phosphortriester-Methode :

(Nuc = Nucleosid)

$\text{R}_1 - \text{R}_3 = \text{analog } \text{R}_1 \text{ und } \text{R}_2 \text{ vorstehend}$

Werden Bindungen vom Phosphordiester-Typ angestrebt, genügt es beim letzten Schritt innerhalb der Linker-System-Synthese kein Bis-Amin, sondern einen Amino-Alkohol zur Reaktion zu bringen.

(b) Anbindung von "vorgefertigten" Biopolymeren:

Die Anbindung des Biopolymeren sieht entweder die Generierung einer kovalenten (dauerhaften) chemischen Verknüpfung des Biomoleküls mit der Trägeroberfläche oder auch eine dauerhafte Verknüpfung über elektrostatische Wechselwirkung vor. Bei ersterer Möglichkeit muß eine chemische Bindung zwischen dem

Biomolekül und der Oberfläche erzeugt werden. Um diese Bindung zu erzeugen, kommt beispielsweise folgendes Vorgehen in Frage:

- (A) Zugabe eines Förderungsmittels
- (B) Aktivierung einer der beiden Reaktanden (Biomolekül oder Oberfläche). Allerdings ist eine Aktivierung der Trägeroberfläche gegenüber einer Aktivierung des Biomoleküls vorzuziehen, da bei der Aktivierung des Biomoleküls selbst unerwünschte Kreuzreaktionen zwischen den aktivierten Biomolekülen - aufgrund des meist poly-funktionellen Charakters des Biomoleküls - nicht auszuschliessen sind. Diese Aktivierung der Oberfläche erfolgt vorzugsweise mittels Crosslinker.

Bei der Anbindung des Biopolymeren durch elektrostatische Wechselwirkung läßt die positive Ladung, welche durch das beschriebene Linker-System unter Verwendung von Aminen erzeugten dendrimere Oberflächen entsteht, insbesondere durch die Inkorporation der Amine (bevorzugt Bis- und Polyamine), erzeugt wird, eine permanente Immobilisierung von negativ geladenen Biopolymeren (z.B. Nukleinsäuren) zu. Hierzu ist keine weitere Aktivierung der Oberfläche notwendig. Das Biopolymer wird erfindungsgemäß direkt auf die dendrimere Oberfläche aufgebracht und wird dauerhaft fixiert. Die Eigenschaften zur dauerhaften Immobilisierung von Biopolymeren durch elektrostatische Wechselwirkung wird erfindungsgemäß nach dadurch gesteigert, daß die dendrimere Oberfläche vorher noch alkyliert, z.B. methyliert, wird.

(A) Anbindung des Biopolymeren unter Zuhilfenahme eines Förderungsmittels

Die Möglichkeit ein Förderungsmittel (Katalysator) zur Erzeugung der kovalenten Bindung zwischen Oberfläche und Biomolekül zu benutzen, stellt im wesentlichen eine 3-Komponenten-Reaktion dar. Werden wie in der vorliegenden Erfindung Möglichkeiten angestrebt, die es erlauben sollen, hochparallel eine grosse Anzahl von Biopolymeren an exakt vor-

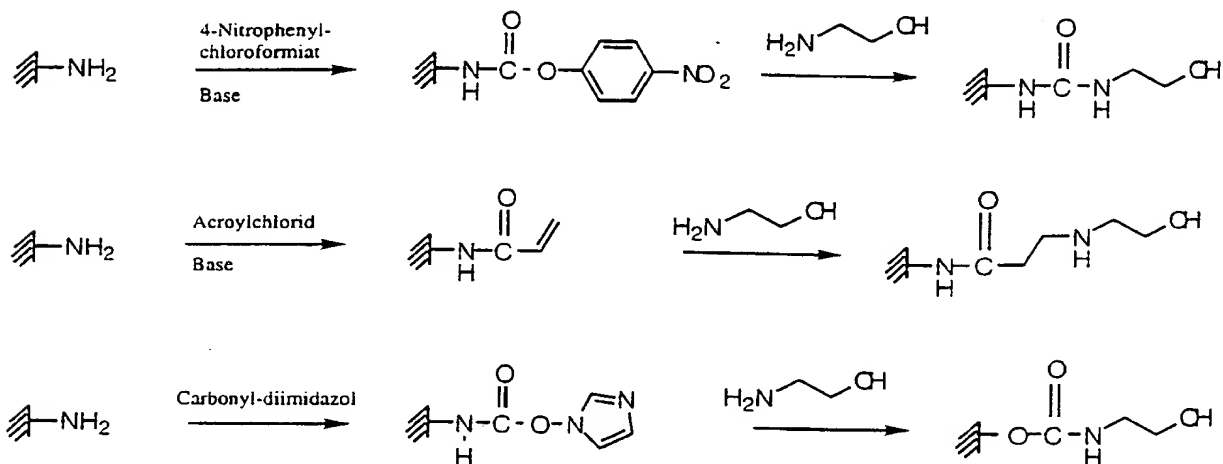
bestimmten Positionen auf einem Träger zu fixieren, kann dies aufgrund von Kreuz-Kontamination nur erschwert mit einem 3-Komponenten-System an ebenen Oberflächen (Folien, Glas o.ä.) gelingen. Daher stellt die Förderungsmittel-Methode einen Spezial-Fall zur kovalenten Anknüpfung von Biopolymeren auf Oberflächen vom Membran-Typ dar. Einzig hier kann das Förderungsmittel in den Poren der Membran lokal dem zu bindenden Biomolekül zur Verfügung gestellt werden, ohne daß mit Kreuz-Kontamination zu rechnen ist (vgl. Beispiel 4). Als Förderungsmittelmittel eignen sich beispielsweise Reagentien vom Carbodiimid-Typ, wie Diisopropylcarbodiimid, EDC oder DCC (Dicyclohexylcarbodiimid). Desweiteren sollten die endständigen Gruppen auf dem Träger und am Biomolekül bevorzugt orthogonal zueinander sein, d.h. diese sollten sinnvoll eine chemische Bindung eingehen können. Hierbei ergeben sich vorzugsweise folgende Kombinationen der zu reagierenden Endgruppen:

<u>Träger-Oberfläche</u>	<u>Biomolekül</u>	<u>resultierender Bindungs-Typ</u>
Amino (-NHR)	Carboxy (-COOH)	Amid-Bindung
Amino (-NHR)	Phosphat ($-\text{PO}_4^{2-}$)	Phosphoramidat
Hydroxyl (-OH)	Carboxy (-COOH)	Ester
Hydroxyl (-OH)	Phosphat ($-\text{PO}_4^{2-}$)	Phosphordiester
Carboxy (-COOH)	Amino (-NHR)	Amid-Bindung
Carboxy (-COOH)	Hydroxyl (-OH)	Ester
Phosphat ($-\text{PO}_4^{2-}$)	Amino (-NHR)	Phosphoramidat
Phosphat ($-\text{PO}_4^{2-}$)	Hydroxyl (-OH)	Phosphordiester

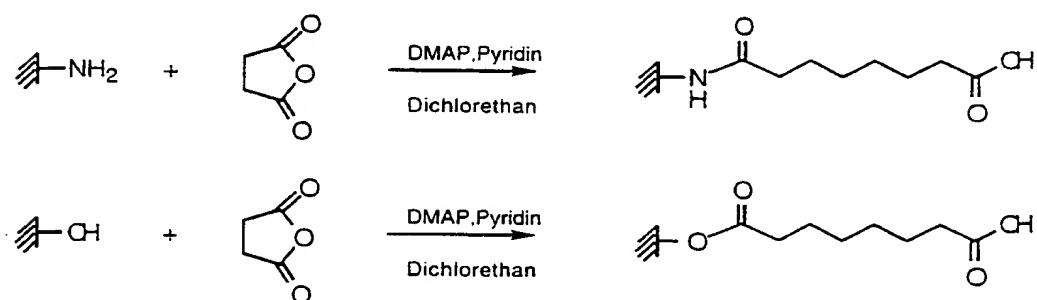
Da die reaktiven Gruppen (Amin-, Hydroxyl-, Phosphat- oder Carboxyl-) mehr oder weniger vom Biomolekül vorgegeben sind, empfiehlt es sich daher für jeden Biomolekül-Typ einen entsprechenden orthogonalen Oberflächen-Typ zur Verfügung zu haben. Um die Träger-Oberflächen-Derivatisierung mit dem Linkersystem für alle oben aufgeführten Kombination von Endgruppen verfügbar zu machen, wurden Methoden zur Um-Derivatisierung der Oberfläche von endständigen

Amino-Funktionen (oder auch Hydroxyl) auf endständige Hydroxyl-, Carboxyl- und Phosphat-Gruppen entwickelt (vgl. Beispiele 5, 6, 7).

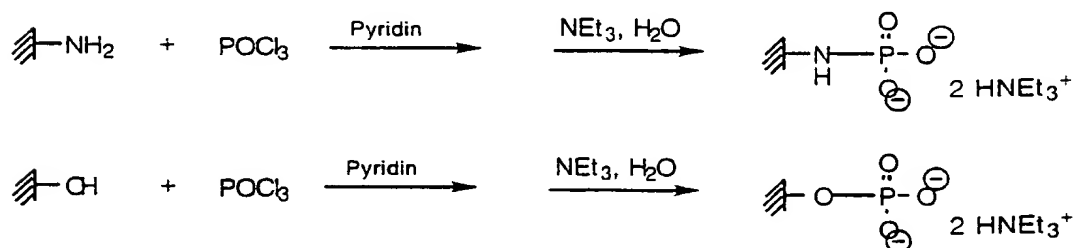
Um-Derivatisierung auf End-Hydroxyl :



Um-Derivatisierung auf End-Carboxyl :



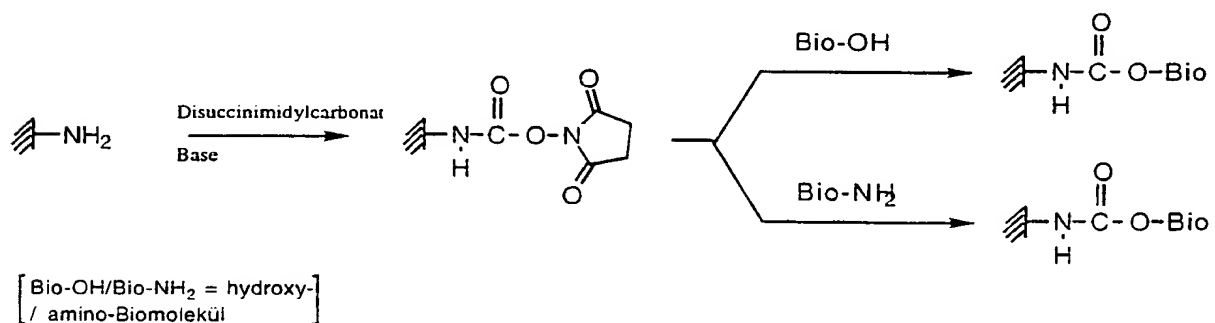
Um-Derivatisierung auf End-Phosphat :



(B) Anbindung des Biopolymeren mittels Crosslinker

Unter einer kovalenten Oberflächen-Aktivierung ist eine solche zu verstehen, bei der Crosslinker quasi als End-Gruppe auf das erfindungsgemäß vorher aufgebaute Linker-System (Flexible Linker-System) aufgepropft wurden. Bei diesen handelt es sich vor allem um aktivierte Ester-, Aldehyd-, Imidoester- oder Isothiocyanat-Funktionen, die in der Lage sind, ohne weitere chemische Eingriffe, mit in wässrigen Systemen gelösten Biopolymeren eine kovalente Bindung einzugehen. Als Reagentien der Wahl sind hier v.a. Dissuccinimidyl-carbonat, Dissuccinimidyl-oxalat, Glutaraldehyd, Dimethylsuberimidat-Dihydrochlorid oder Phenylendiisothiocyanat zu nennen. Die Umsetzung erfolgt bevorzugt unter basischen Bedingungen, d.h. unter Zusatz von Diisopropylethylamin oder NaCO_3 .

Prinzip:



Die Erfindung wird weiter anhand der Figuren beschrieben, welche zeigen:

Fig. 1: Generierung von Dendrimerstrukturen nach Aktivierung mit Acryloylchlorid

Fig. 2; Generierung von Dendrimerstrukturen nach Aktivierung mit 4-Nitrophenylchloroformiat

Die Erfindung wird weiter anhand der Beispiele beschrieben.

Beispiel 1: Derivatisierung eines Glasträgers

Ausgegangen wird von aminierten Glasträgern (40 x 48 mm), der entweder kommerziell erhältlich ist oder nach den üblichen Methoden der Silanisierung darstellbar ist. Zur Aktivierung der Aminofunktionen werden die aminierten Glasträger in 20 ml wasserfreies Dichlorethan mit 200 mg 4-Nitrophenyl-chloroformiat (1 mmol) und 171 µl Diisopropylethylamin (1 mmol) gelegt und für 2 Stunden auf dem Schüttler geschwenkt. Der BPB-Kontrolltest zeigt keine Blaufärbung. Die Glasträger werden über Nacht in 20 ml amin-freiem DMF mit 223 µl Tetraethylenpentamin (1 mmol) umgesetzt. Der BPB-Kontrolltest zeigt eine Blaufärbung. Zum Starten eines neuen Zyklus' werden die Glasträger in 20 ml wasserfreies Dichlorethan mit 200 mg 4-Nitrophenyl-chloroformiat (1 mmol) und 171 µl Diisopropylethylamin (1 mmol) gelegt und für 2 Stunden auf dem Schüttler geschwenkt. Der BPB-Kontrolltest zeigt keine Blaufärbung. Die Glasträger werden über Nacht in 20 ml amin-freiem DMF mit 140 µl 1,4-Bis(3-aminopropoxy)-butan (1 mmol) umgesetzt. Der BPB-Test zeigt eine Blaufärbung.

Die so derivatisierten Glasträger verfügen an ihrer Oberfläche jetzt über Linker an die Biopolymere (z.B. Nukleinsäuren) gekoppelt werden können.

Beispiel 2: Derivatisierung eines Glasträgers

Ausgegangen wird von einem aminierten Glasträger (40 x 48 mm), der entweder kommerziell erhältlich oder nach den üblichen Methoden über Silanisierung darstellbar ist. Zur Aktivierung der Aminofunktionen werden die aminierten Glasträger in 20 ml wasserfreies Dichlorethan mit 81 µl Acryloylchlorid (1 mmol)

und 171 μ l Diisopropylethylamin (1 mmol) gelegt und für 2 Stunden auf dem Schüttler geschwenkt. Der BPB-Kontrolltest zeigt keine Blaufärbung. Die Glasträger werden über 2 Nächte in 20 ml amin-freiem DMF mit 223 μ l Tetraethylenpentamin (1 mmol) umgesetzt. Der BPB-Kontrolltest zeigt eine Blaufärbung. Zum Starten eines neuen Zyklus werden die Glasträger in 20 ml wasserfreies Dichlorethan mit 81 μ l Acryloylchlorid (1 mmol) und 171 μ l Diisopropylethylamin (1 mmol) gelegt und für 2 Stunden auf dem Schüttler geschwenkt. Der BPB-Kontrolltest zeigt keine Blaufärbung. Die Glasträger werden über 2 Nächte in 20 ml amin-freiem DMF mit 140 μ l 1,4-Bis(3-aminopropoxy)-butan (1 mmol) umgesetzt. Der BPB-Test zeigt eine Blaufärbung.

Die so derivatisierten Glasträger verfügen an ihrer Oberfläche jetzt über Linker an die Biopolymere (z.B. Nukleinsäuren) gekoppelt werden können.

Beispiel 3: Derivatisierung von Polypropylenmembranen

Ausgegangen wird von einer käuflichen hydrophilisierten Polypropylenmembran (8 x 12 cm). Zur Aktivierung wird die Membran mit 324 μ l Acryloylchlorid (4 mmol) und 684 μ l Diisopropylethylamin (4 mmol) in 30 ml wasserfreiem Dichlorethan auf dem Rüttler zur Reaktion gebracht. Nach 2 Std. wird von der Reaktionslösung abdekantiert und mehrmals sorgfältig mit Dichlorethan gewaschen und getrocknet. Der Bromphenolblau-Test (BPB-Test) zeigt keine Blaufärbung. Nachfolgend wird die aktivierte Membran 2 Tage mit 892 μ l Tetraethylenpentamin (4 mmol) in 30 ml aminfreiem DMF auf dem Rüttler geschwenkt. Dann wird die Reaktionslösung abdekantiert und die Membran mehrmals sorgfältig mit DMF und dann mit Dichlorethan gewaschen und getrocknet. Der Bromphenolblau-Test zeigt Blaufärbung. Zur weiteren Aktivierung wird die nun aminierte Membran erneut mit 324 μ l Acryloylchlorid (4 mmol) und 684 μ l Diisopropylethylamin (4 mmol) in 30 ml wasserfreiem Dichlorethan auf dem Rüttler zur Reaktion gebracht. Nach 2

Std. wird von der Reaktionslösung dekantiert und mehrmals sorgfältig mit Dichlorethan gewaschen und getrocknet. Der Bromphenolblau-Test (BPB-Test) zeigt keine Blaufärbung. Nachfolgend wird die aktivierte Membran 2 Tage mit 560 μ l 1,6-Bis(3-aminopropoxy)-butan (4 mmol) in 30 ml aminfreiem DMF auf dem Rüttler geschwenkt. Dann wird die Reaktionslösung abdekantiert und die Membran mehrmals sorgfältig mit DMF und dann mit Dichlorethan gewaschen und getrocknet. Der Bromphenolblau-Test (BPB-Test) zeigt Blaufärbung.

**Beispiel 4: Anbindung von Nukleinsäuren auf
Polypropylenmembranen**

a) Anbindung unter Zuhilfenahme eines Aktivierungsmittels

Eine gemäß Beispiel 3 derivatisierte Polypropylenmembran (8 x 12 cm) wird auf einem Whatman-Filterpapier 5 Min. mit einer Lösung aus 54 mg N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethyl-carbodiimidhydrochlorid und 24 ml N-Methylimidazol in 10 ml Wasser inkubiert. Die Reaktionslösung wird abdekantiert. Die so aktivierte, noch feuchte Polypropylen-Membran kann nun zum kovalenten Aufbringen von Biopolymeren (Nukleinsäuren) verwendet werden. Nach dem Aufbringen der Biopolymere (z.B. durch Spotting-Roboter oder Nano-Plotter) werden die Proben durch 2 hr Inkubieren bei 65 °C auf der Membran fixiert ; anschliessend wird die Membran sorgfältig mit Wasser gewaschen.

b) Anbindung mittels elektrostatischer Wechselwirkung unter nicht-denaturierenden Bedingungen

Eine analog Beispiel 3 derivatisierte Polypropylenmembran (8x12 cm) wird auf einem Filterpapier mit Wasser befeuchtet. Die feuchte Membran kann direkt nun zum Aufbringen von Biopolymeren verwendet werden. Nach dem Aufbringen der

Biopolymere (z.B. mittels eines Spotting-Roboters) werden die Proben durch 2 stündige Inkubation bei 65°C auf der Membran fixiert. Anschließend wird die Membran gründlich mit Wasser gewaschen.

Alternativ können die Biopolymere auch direkt auf eine trockene Membran aufgebracht werden.

- c) Anbindung mittels elektrostatischer Wechselwirkung unter denaturierenden Bedingungen

Eine analog Beispiel 3 derivatisierte Polypropylenmembran (8x12 cm) wird auf einem Filterpapier mit 10 ml Denaturierungspuffer (0,5 M NaOH, 1,5 M NaCl) getränkt. Nach 10 Min. Inkubation wird der Überstand an Denaturierungspuffer abdekantiert. Die noch feuchte Membran kann nun zum Immobilisieren von Biopolymeren verwendet werden. Nach dem Aufbringen der Biopolymere (z.B. mittels Spotting-Roboter) werden die Membranen über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet. Anschließend wird die Membran gründlich mit Wasser gewaschen.

Beispiel 5: Synthese endständiger Hydroxyl-Gruppen

- a) Aktivierung mit Chlorameisensäure-4-nitrophenylester :

Eine amino-funktionalisierte Polypropylen-Membran (Omnitray-Grösse) gemäß Beispiel 3 wird in 30 ml wasserfreiem Dichlorethan mit 400 mg Chlorameisensäure-4-nitrophenylester (2 mmol) und 342 µl Diisopropylethylamin (2 mmol) für 2 hr auf dem Schüttler geschwenkt. Man wäscht 2 x je 5 min mit 50 ml Dichlormethan und trocknet im Stickstoffstrom. Die so aktivierte PP-Membran wird nun mit 200 ml 2-(2-Aminoethoxy)ethanol (2 mmol) in 30 ml aminfreiem DMF 30 min auf dem Schüttler geschwenkt, worauf die Reaktionslösung abdekantiert wird. Nach kurzem Waschen mit DMF wird die PP-Membran erneut mit 200 µl 2-(2-Aminoethoxy)ethanol (2 mmol) in 30 ml aminfreiem DMF versetzt und über Nacht auf dem Schüttler

geschwenkt. Von der Reaktionslösung wird abdekantiert, und die PP-Membran 2x je 5 min mit 50 ml DMF und dann 2 x mit 50 ml Aceton gewaschen und getrocknet.

b) Aktivierung mit Acryloylchlorid :

Eine amino-funktionalisierte Polypropylen-Membran (Omnitray-Grösse) gemäß Beispiel 3 wird in 30 ml wasserfreiem Dichlorethan mit 162 μ l Acryloylchlorid (2 mmol) und 342 μ l Diisopropylethylamin (2 mmol) für 2 hr auf dem Schüttler geschwenkt. Man wäscht 2 x je 5 min mit 50 ml Dichlormethan und trocknet im Stickstoffstrom. Die so aktivierte PP-Membran wird nun mit 200 μ l 2-(2-Aminoethoxy)ethanol (2 mmol) in 30 ml aminfreiem DMF 30 min auf dem Schüttler geschwenkt, worauf die Reaktionslösung abdekantiert wird. Nach kurzem Waschem mit DMF wird die PP-Membran erneut mit 200 μ l 2-(2-Aminoethoxy)ethanol (2 mmol) in 30 ml aminfreiem DMF versetzt und über Nacht auf dem Schüttler geschwenkt. Von der Reaktionslösung wird abdekantiert, und die PP-Membran 2x je 5 min mit 50 ml DMF und dann 2 x mit 50 ml Aceton gewaschen und getrocknet.

Beispiel 6: Synthese endständiger Carboxyl-Gruppen

Eine amino-funktionalisierte Polypropylen-Membran (Omnitray-Grösse) gemäß Beispiel 3 wird in 30 ml trockenem Dichlorethan mit 400 mg Bernsteinsäureanhydrid (4 mmol), 1 ml Pyridin (24 mmol) und 488 mg DMAP (4 mmol) über Nacht auf dem Schüttler zur Reaktion gebracht. Nachfolgend wird die Reaktionslösung abdekantiert und die PP-Membran nacheinander mit 30 ml Dichlormethan, 30 ml Aceton, 30 ml 1 % HCl, 2 x 30 ml Wasser und 2 x mit 30 ml Aceton jeweils 5 min. gewaschen und getrocknet.

Beispiel 7: Synthese endständiger Phosphat-Gruppen

Unter Eisbadkühlung werden 0.42 ml POCl₃ (4 mmol) in 40 ml trockenem Pyridin gelöst. Nachfolgend werden 828 mg

1,2,4-Triazol (12 mmol) zugefügt. Nach 10 min wird die hydroxyl-funktionalisierte Polypropylen-Membran gemäß Beispiel 4 zugefügt und weitere 10 min unter Eisbadkühlung auf dem Rüttler geschwenkt. Anschliessend wird das Eisbad entfernt und noch 45 min geschwenkt. Die Reaktionslösung wird abdekantiert und vorsichtig mit 50 ml eines Gemisch aus Triethylamin / Dioxan / Wasser hydrolisiert. Man wäscht sorgfältig nacheinander 2 x mit 50 ml Wasser, kurz mit 50 ml 1 % HCl, 2 x mit 50 ml Wasser und 2x 5 min mit 50 ml Aceton und trocknet im Stickstoff-Strom.

**Beispiel 8: Oberflächen - Aktivierung mit
Disuccinimidylcarbonat**

7 amino-funktionalisierte Glas-Objektträger werden in 30 ml wasserfreiem Acetonitril mit 256 mg Disuccinimidylcarbonat (2 mmol) und 513 μ l Diisopropylethylamin (3 mmol) für 4 hr auf dem Schüttler geschwenkt. Man wäscht mit 50 ml Acetonitril, dann mit 50 ml Dichlorethan und trocknet im Stickstoffstrom.

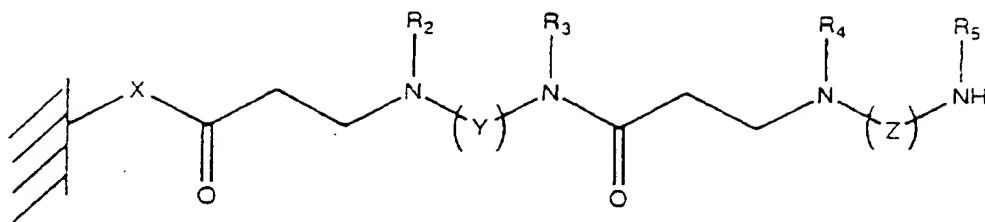
**Beispiel 9: Methylierung eines Glasträgers zur
Verbesserung der Eigenschaften für die
Immobilisierung von Biomolekülen durch
elektrostatische Wechselwirkung**

7 Stück derivatisierte Glasträger (derivatisiert analog Beispiel 2) werden für 1,5 Stunden mit einer Lösung aus 0,125 ml Trifluormethansulfonsäuremethylester (1,1 mmol) in 40 ml Dichlorethan inkubiert. Danach wird gründlich mit Dichlorethan und Aceton gewaschen und die Träger getrocknet.

Patentansprüche

- 1) Verfahren zum Derivatisieren von Trägern, wobei eine funktionelle Gruppe auf einer Trägersoberfläche durch Umsetzung mit einem Aktivierungsreagenz aktiviert wird und nachfolgend mit einer Amin-Komponente umgesetzt wird.
- 2) Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Träger ausgewählt sind aus Glas, Folien bzw. Membranen aus Polypropylen, Nylon, Cellulose, Cellulosederivate (z.B. Celluloseacetat, Cellulose-Mischester), Polyethersulfonen, Polyamiden, Polyvinylchlorid, Polyvinylidenfluorid, Polyester, Polyethylen oder Teflon.
- 3) Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei die funktionelle Gruppe eine Amin-, Hydroxyl-, Phosphat-, Carboxyl-, Carbonyl-, Thiol- oder Amid-Gruppe ist.
- 4) Verfahren nach einem der Ansprüche 1-3, wobei das Aktivierungsreagenz Acryloylchlorid, 4-Nitrophenylchloroformiat, Carbonyldiimidazol, Phenylchloroformiat, Phosgen, Diphosgen, Triphosgen, EDC (N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethyl-carbodiimidhydrochlorid), N,N'-Diisopropyl-carbodiimid, Dicyclohexyl-carbodiimid, Disuccinimidyl-carbonat, Disuccinimidyl-oxalat, Dimethylsuberimidat-Dihydrochlorid oder Phenylendiisothiocyanat ist.
- 5) Verfahren nach einem der Ansprüche 1-4, wobei die Amin-Komponente ausgewählt ist aus Monoaminen, Bisaminen oder Polyaminen.
- 6) Verfahren nach Anspruch 5, wobei das Mono-Amin 2-Aminoethanol, 6-Amino-1-hexanol, 2-(4-Aminophenyl)-ethanol, 5-Amino-n-valeriansäure, 2-(2-Aminoethoxy)ethanol oder 3-Amino-1,2-propandiol ist.

- 7) Verfahren nach Anspruch 5, wobei das Bis-Amin 1,4-Bis(3-aminopropoxy)butan, O,O'-Bis(2-aminopropyl)polyethylenglykol 500 (= Jeffamin 500), O,O'-Bis(2-aminopropyl)polyethylenglykol 130 (= Jeffamin 130), 4,7,10-Trioxa-1.13-tridecanamin, oder Ethylendiamin ist.
- 8) Verfahren nach Anspruch 5, wobei das Polyamin Tetraethylenpentamin, Spermin, Spermidin, 4,7,10-Trioxa-1.13-tridecandiamin oder 4-Aminomethyl-1,8-octandiamin ist.
- 9) Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei die Schritte der Umsetzung mit einem Aktivierungsreagenz und einer Amin-Komponente mehrmals durchgeführt werden.
- 10) Verfahren nach Anspruch 9, wobei es zum Aufbau von Dendrimer-Strukturen an der Trägeroberfläche kommt.
- 11) Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei es zum gesteuerten Aufbau von positiver Ladung an der Trägeroberfläche kommt.
- 12) Verfahren nach einem der Ansprüche 1-11, wobei zusätzlich die gemäß einem Ansprüche 1-11 derivatisierte Trägeroberfläche vor dem Anbinden von Biopolymeren aktiviert wird.
- 13) Verfahren nach Anspruch 12, wobei als Aktivierungsmittel Disuccinimidylcarbonat, Disuccinimidylloxalat, Glutaraldehyd, Dimethylsuberimidat-Dihydrochlorid oder Phenylendiisothiocyanat verwendet wird.
- 14) Träger geeignet zur Anbindung von Biopolymeren, wobei der Träger an seiner Oberfläche Linker mit folgender Struktur aufweist:



X = O, NHR₁

Y, Z = können gleich oder verschieden sein und ausgewählt sein aus

-(CH₂)_n -

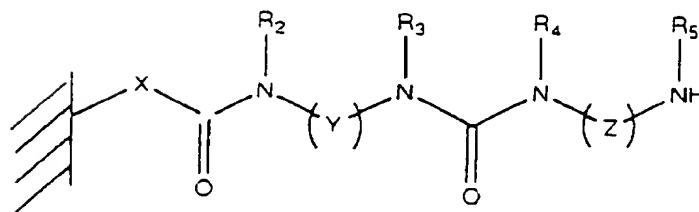
-(CH₂CH₂O)_n-CH₂CH₂

-(CH₂CH₂CH₂O)_n-CH₂CH₂CH₂- usw.

R₁-R₅ = können gleich oder verschieden sein und ausgewählt sein aus gerader oder verzweigter Alkylrest mit 1-30 Kohlenstoffatomen, gerader oder verzweigter Alkenylrest mit 2 bis 30 Kohlenstoffatomen, mono- oder polyzyklischer Alkylrest mit 3 bis 30 Kohlenstoffatomen oder mono- oder polyzyklischer Alkenylrest mit 4 bis 30 Kohlenstoffatomen oder mono- oder polyzyklischen Rest mit 6 bis 30 Kohlenstoffatomen, wobei die Reste ggf. durch einen oder mehrere Substituenten (z.B. OH, Carboxyl, Carbonyl, Phosphat-) substituiert sein können)

n = 1-50

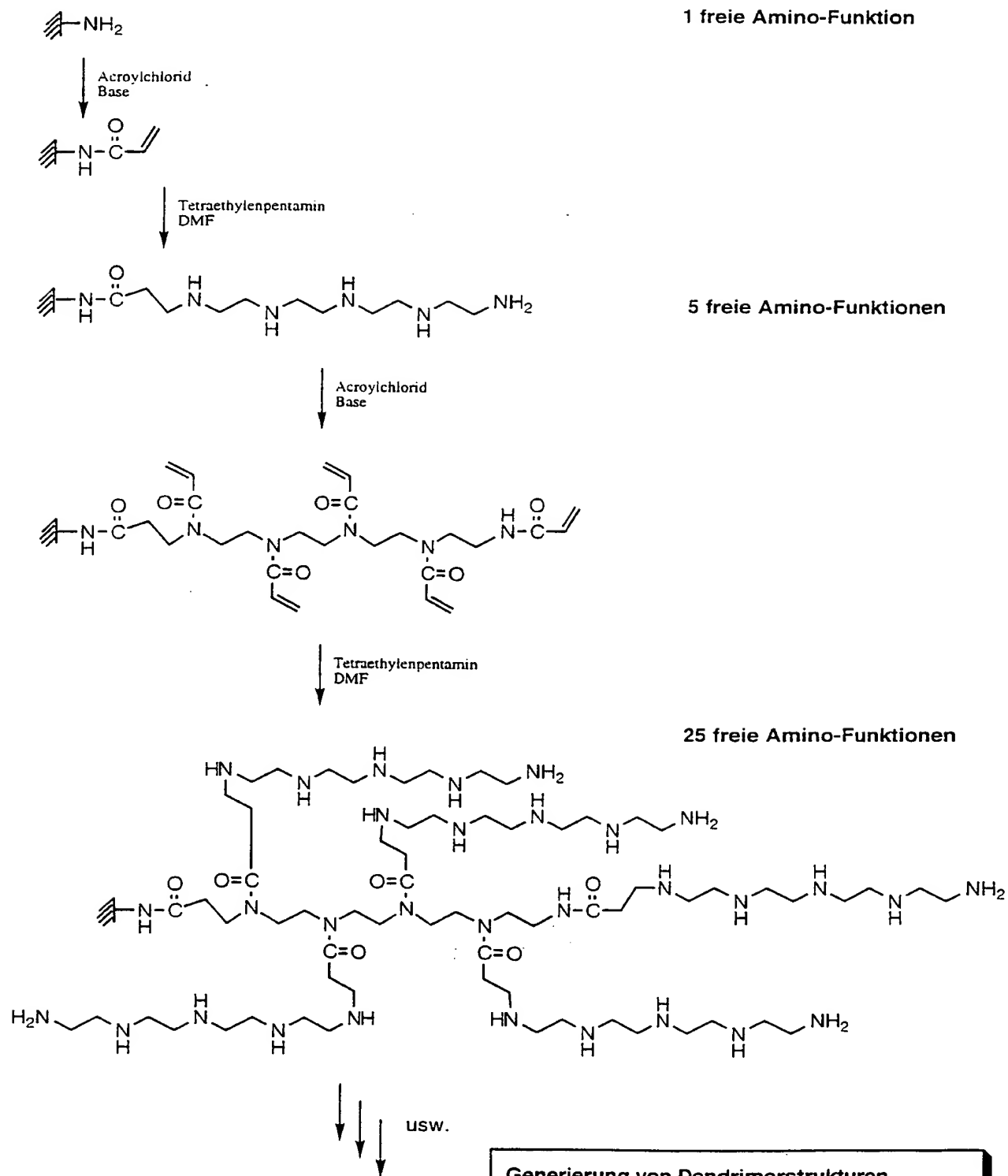
oder



$X =$ O, NHR_1
 $Y, Z =$ können gleich oder verschieden sein und ausgewählt sein aus
 $-(CH_2)_n -$
 $-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2$
 $-(CH_2CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2CH_2-$ usw.
 $R_1-R_5 =$ können gleich oder verschieden sein und können ausgewählt sein aus gerader oder verzweigter Alkylrest mit 1-30 Kohlenstoffatomen, gerader oder verzweigter Alkenylrest mit 2 bis 30 Kohlenstoffatomen, mono- oder polyzyklischer Alkylrest mit 3 bis 30 Kohlenstoffatomen oder mono- oder polyzyklischer Alkenylrest mit 4 bis 30 Kohlenstoffatomen oder mono- oder polyzyklischen Rest mit 6 bis 30 Kohlenstoffatomen, wobei die Reste ggf. durch einen oder mehrere Substituenten (z.B. OH, Carboxyl, Carbonyl, Phosphat-) substituiert sein können)
 $n =$ 1-50

- 15) Träger geeignet zur Anbindung von Biopolymeren, wobei dieser an seiner Oberfläche Linker in Form von Dendrimer-Strukturen aufweist.
- 16) Verwendung eines nach einem der Ansprüche 1-11 hergestellten Trägers oder eines Trägers nach Anspruch 14 oder 15 zur Anbindung von Biopolymeren.
- 17) Verwendung nach Anspruch 16, wobei die Biopolymere aus DNA, RNA, Nukleotidanaloga, Peptiden, Proteinen oder Antikörpern ausgewählt sind.

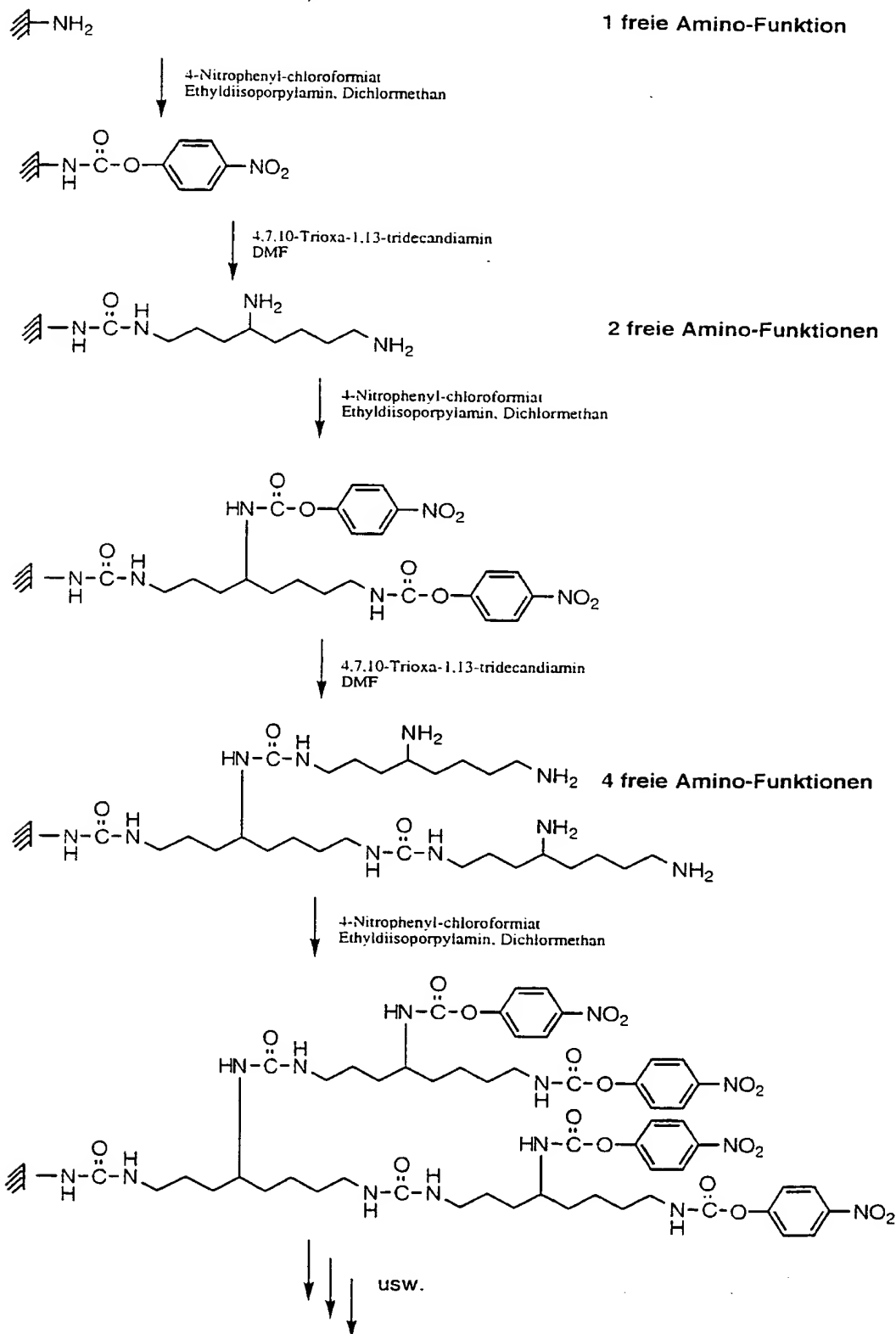
THIS PAGE BLANK (USPTO)



[Fig.1]

THIS PAGE BLANK (USPTO)

2/2



[Fig.2]

Generierung von Dendrimerstrukturen mit
Aktivierung durch 4-Nitrophenyl-chloroformiat

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
25. Mai 2000 (25.05.2000)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 00/29373 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C07C 237/10, 275/14, C12Q 1/68

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE99/03692

(22) Internationales Anmeldedatum:
17. November 1999 (17.11.1999)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
198 53 242.3 18. November 1998 (18.11.1998) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS [DE/DE]; Im Neuenheimer Feld 280, D-69120 Heidelberg (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BEIER, Markus [DE/DE]; Werderstrasse 42a, D-69120 Heidelberg (DE).

(74) Anwalt: SCHÜSSLER, Andrea; Huber & Schüssler, Truderinger Strasse 246, D-81825 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- Mit internationalem Recherchenbericht.
- Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen.

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 28. Dezember 2000

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: DERIVATISATION OF SUPPORT SURFACES

(54) Bezeichnung: DERIVATISIERUNG VON TRÄGEROBERFLÄCHEN

(57) Abstract: The invention relates to a method for derivatising supports. A functional group is activated on the surface of a support by reaction with an activating reagent and then reacted with an amine component. The invention also relates to a support with a dendrimer structure on its surface and to the use of a support that has been produced according to the invention for binding biopolymers.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zum Derivatisieren von Trägern, wobei eine funktionelle Gruppe auf einer Trägeroberfläche durch Umsetzung mit einem Aktivierungsreagenz aktiviert wird und nachfolgend mit einer Amin-Komponente umgesetzt wird. Weiter betrifft die Erfindung einen Träger mit Dendrimerstruktur an seiner Oberfläche sowie die Verwendung eines erfindungsgemäß hergestellten Trägers zur Anbindung von Biopolymeren.

WO 00/29373 A3

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

PCT

An
HUBER & SCHÜSSLER
Patentanwälte
z.H. SCHÜBLER, Andrea
Truderinger Strasse 246
81825 München
GERMANY

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERMITTLUNG DES
INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHTS
ODER DER ERKLÄRUNG

(Regel 44.1 PCT)

Huber & Schüssler
Patentanwälte
06. NOV. 2000
Frist: 6.1.01

Absenddatum
(Tag/Monat/Jahr)

06/11/2000

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts

K 2765N - sch/ms1

WEITERES VORGEHEN

siehe Punkte 1 und 4 unten

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 99/ 03692

Internationales Anmeldedatum

(Tag/Monat/Jahr)

17/11/1999

Anmelder

DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG et al.

1. ☒ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß der internationale Recherchenbericht erstellt wurde und ihm hiermit übermittelt wird.

Einreichung von Änderungen und einer Erklärung nach Artikel 19:

Der Anmelder kann auf eigenen Wunsch die Ansprüche der internationalen Anmeldung ändern (siehe Regel 46):

Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Die Frist zur Einreichung solcher Änderungen beträgt üblicherweise zwei Monate ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts; weitere Einzelheiten sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

Wo sind Änderungen einzureichen?

Unmittelbar beim Internationalen Büro der WIPO, 34, CHEMIN des Colombettes, CH-1211 Genf 20,
Telefaxnr.: (41-22) 740.14.35

Nähere Hinweise sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

2. ☐ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß kein internationaler Recherchenbericht erstellt wird und daß ihm hiermit die Erklärung nach Artikel 17(2)a) übermittelt wird.

3. ☐ Hinsichtlich des Widerspruchs gegen die Entrichtung einer zusätzlichen Gebühr (zusätzlicher Gebühren) nach Regel 40.2 wird dem Anmelder mitgeteilt, daß

☐ der Widerspruch und die Entscheidung hierüber zusammen mit seinem Antrag auf Übermittlung des Wortlauts sowohl des Widerspruchs als auch der Entscheidung hierüber an die Bestimmungsämter dem Internationalen Büro übermittelt worden sind.

☐ noch keine Entscheidung über den Widerspruch vorliegt; der Anmelder wird benachrichtigt, sobald eine Entscheidung getroffen wurde.

4. **Weiteres Vorgehen:** Der Anmelder wird auf folgendes aufmerksam gemacht:

Kurz nach Ablauf von **18 Monaten** seit dem Prioritätsdatum wird die internationale Anmeldung vom Internationalen Büro veröffentlicht. Will der Anmelder die Veröffentlichung verhindern oder auf einen späteren Zeitpunkt verschieben, so muß gemäß Regel 90 bis bzw. 90^{bis} 3 vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung eine Erklärung über die Zurücknahme der internationalen Anmeldung oder des Prioritätsanspruchs beim Internationalen Büro eingehen.

Innerhalb von **19 Monaten** seit dem Prioritätsdatum ist ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung einzureichen, wenn der Anmelder den Eintritt in die nationale Phase bis zu 30 Monaten seit dem Prioritätsdatum (in manchen Ämtern sogar noch länger) verschieben möchte.

Innerhalb von **20 Monaten** seit dem Prioritätsdatum muß der Anmelder die für den Eintritt in die nationale Phase vorgeschriebenen Handlungen vor allen Bestimmungsämtern vornehmen, die nicht innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum in der Anmeldung oder einer nachträglichen Auswahlerklärung ausgewählt wurden oder nicht ausgewählt werden konnten, da für sie Kapitel II des Vertrages nicht verbindlich ist.

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde



Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

John De Bruijn

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220

Diese Anmerkungen sollen grundlegende Hinweise zur Einreichung von Änderungen gemäß Artikel 19 geben. Diesen Anmerkungen liegen die Erfordernisse des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens (PCT), der Ausführungsordnung und der Verwaltungsrichtlinien zu diesem Vertrag zugrunde. Bei Abweichungen zwischen diesen Anmerkungen und obengenannten Texten sind letztere maßgebend. Nähere Einzelheiten sind dem PCT-Leitfaden für Anmelder, einer Veröffentlichung der WIPO, zu entnehmen.

Die in diesen Anmerkungen verwendeten Begriffe "Artikel", "Regel" und "Abschnitt" beziehen sich jeweils auf die Bestimmungen des PCT-Vertrags, der PCT-Ausführungsordnung bzw. der PCT-Verwaltungsrichtlinien.

HINWEISE ZU ÄNDERUNGEN GEMÄSS ARTIKEL 19

Nach Erhalt des internationalen Recherchenberichts hat der Anmelder die Möglichkeit, einmal die Ansprüche der internationalen Anmeldung zu ändern. Es ist jedoch zu betonen, daß, da alle Teile der internationalen Anmeldung (Ansprüche, Beschreibung und Zeichnungen) während des internationalen vorläufigen Prüfungsverfahrens geändert werden können, normalerweise keine Notwendigkeit besteht, Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 einzureichen, außer wenn der Anmelder z.B. zum Zwecke eines vorläufigen Schutzes die Veröffentlichung dieser Ansprüche wünscht oder ein anderer Grund für eine Änderung der Ansprüche vor ihrer internationalen Veröffentlichung vorliegt. Weiterhin ist zu beachten, daß ein vorläufiger Schutz nur in einigen Staaten erhältlich ist.

Welche Teile der internationalen Anmeldung können geändert werden?

Im Rahmen von Artikel 19 können nur die Ansprüche geändert werden.

In der internationalen Phase können die Ansprüche auch nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert (oder nochmals geändert) werden. Die Beschreibung und die Zeichnungen können nur nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert werden.

Beim Eintritt in die nationale Phase können alle Teile der internationalen Anmeldung nach Artikel 28 oder gegebenenfalls Artikel 41 geändert werden.

Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Innerhalb von zwei Monaten ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts oder innerhalb von sechzehn Monaten ab dem Prioritätsdatum, je nachdem, welche Frist später abläuft. Die Änderungen gelten jedoch als rechtzeitig eingereicht, wenn sie dem internationalen Büro nach Ablauf der maßgebenden Frist, aber noch vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung (Regel 46.1) zugehen.

Wo sind die Änderungen nicht einzureichen?

Die Änderungen können nur beim internationalen Büro, nicht aber beim Anmeldeamt oder der internationalen Recherchenbehörde eingereicht werden (Regel 46.2).

Falls ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung eingereicht wurde/wird, siehe unten.

In welcher Form können Änderungen erfolgen?

Eine Änderung kann erfolgen durch Streichung eines oder mehrerer ganzer Ansprüche, durch Hinzufügung eines oder mehrerer neuer Ansprüche oder durch Änderung des Wortlauts eines oder mehrerer Ansprüche in der eingereichten Fassung.

Für jedes Anspruchsblatt, das sich aufgrund einer oder mehrerer Änderungen von dem ursprünglich eingereichten Blatt unterscheidet, ist ein Ersatzblatt einzureichen.

Alle Ansprüche, die auf einem Ersatzblatt erscheinen, sind mit arabischen Ziffern zu numerieren. Wird ein Anspruch gestrichen, so brauchen die anderen Ansprüche nicht neu nummeriert zu werden. Im Fall einer Neunummerierung sind die Ansprüche fortlaufend zu numerieren (Verwaltungsrichtlinien, Abschnitt 205 b)).

Die Änderungen sind in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Welche Unterlagen sind den Änderungen beizufügen?

Begleitschreiben (Abschnitt 205 b)):

Die Änderungen sind mit einem Begleitschreiben einzureichen.

Das Begleitschreiben wird nicht zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht. Es ist nicht zu verwechseln mit der "Erklärung nach Artikel 19(1)" (siehe unten, "Erklärung nach Artikel 19 (1)").

Das Begleitschreiben ist nach Wahl des Anmelders in englischer oder französischer Sprache abzufassen. Bei englischsprachigen internationalen Anmeldungen ist das Begleitschreiben aber ebenfalls in englischer, bei französischsprachigen internationalen Anmeldungen in französischer Sprache abzufassen.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220 (Fortsetzung)

Im Begleitschreiben sind die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen anzugeben. So ist insbesondere zu jedem Anspruch in der internationalen Anmeldung anzugeben (gleichlautende Angaben zu verschiedenen Ansprüchen können zusammengefaßt werden), ob

- i) der Anspruch unverändert ist;
- ii) der Anspruch gestrichen worden ist;
- iii) der Anspruch neu ist;
- iv) der Anspruch einen oder mehrere Ansprüche in der eingereichten Fassung ersetzt;
- v) der Anspruch auf die Teilung eines Anspruchs in der eingereichten Fassung zurückzuführen ist.

Im folgenden sind Beispiele angegeben, wie Änderungen im Begleitschreiben zu erläutern sind:

1. [Wenn anstelle von ursprünglich 48 Ansprüchen nach der Änderung einiger Ansprüche 51 Ansprüche existieren]:
"Die Ansprüche 1 bis 29, 31, 32, 34, 35, 37 bis 48 werden durch geänderte Ansprüche gleicher Numerierung ersetzt; Ansprüche 30, 33 und 36 unverändert; neue Ansprüche 49 bis 51 hinzugefügt."
2. [Wenn anstelle von ursprünglich 15 Ansprüchen nach der Änderung aller Ansprüche 11 Ansprüche existieren]:
"Geänderte Ansprüche 1 bis 11 treten an die Stelle der Ansprüche 1 bis 15."
3. [Wenn ursprünglich 14 Ansprüche existierten und die Änderungen darin bestehen, daß einige Ansprüche gestrichen werden und neue Ansprüche hinzugefügt werden]:
Ansprüche 1 bis 6 und 14 unverändert; Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt. "Oder" Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt; alle übrigen Ansprüche unverändert."
4. [Wenn verschiedene Arten von Änderungen durchgeführt werden]:
"Ansprüche 1-10 unverändert; Ansprüche 11 bis 13, 18 und 19 gestrichen; Ansprüche 14, 15 und 16 durch geänderten Anspruch 14 ersetzt; Anspruch 17 in geänderte Ansprüche 15, 16 und 17 unterteilt; neue Ansprüche 20 und 21 hinzugefügt."

"Erklärung nach Artikel 19(1)" (Regel 46.4)

Den Änderungen kann eine Erklärung beigelegt werden, mit der die Änderungen erläutert und ihre Auswirkungen auf die Beschreibung und die Zeichnungen dargelegt werden (die nicht nach Artikel 19 (1) geändert werden können).

Die Erklärung wird zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht.

Sie ist in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Sie muß kurz gehalten sein und darf, wenn in englischer Sprache abgefaßt oder ins Englische übersetzt, nicht mehr als 500 Wörter umfassen.

Die Erklärung ist nicht zu verwechseln mit dem Begleitschreiben, das auf die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen hinweist, und ersetzt letzteres nicht. Sie ist auf einem gesonderten Blatt einzureichen und in der Überschrift als solche zu kennzeichnen, vorzugsweise mit den Worten "Erklärung nach Artikel 19 (1)".

Die Erklärung darf keine herabsetzenden Äußerungen über den internationalen Recherchenbericht oder die Bedeutung von in dem Bericht angeführten Veröffentlichungen enthalten. Sie darf auf im internationalen Recherchenbericht angeführte Veröffentlichungen, die sich auf einen bestimmten Anspruch beziehen, nur im Zusammenhang mit einer Änderung dieses Anspruchs Bezug nehmen.

Auswirkungen eines bereits gestellten Antrags auf internationale vorläufige Prüfung

Ist zum Zeitpunkt der Einreichung von Änderungen nach Artikel 19 bereits ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung gestellt worden, so sollte der Anmelder in seinem Interesse gleichzeitig mit der Einreichung der Änderungen beim Internationalen Büro auch eine Kopie der Änderungen bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde einreichen (siehe Regel 62.2 a), erster Satz).

Auswirkungen von Änderungen hinsichtlich der Übersetzung der internationalen Anmeldung beim Eintritt in die nationale Phase

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß bei Eintritt in die nationale Phase möglicherweise anstatt oder zusätzlich zu der Übersetzung der Ansprüche in der eingereichten Fassung eine Übersetzung der nach Artikel 19 geänderten Ansprüche an die bestimmten/ausgewählten Ämter zu übermitteln ist.

Nähere Einzelheiten über die Erfordernisse jedes bestimmten/ausgewählten Amtes sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2765N - sch/msl	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE 99/ 03692	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 17/11/1999	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 18/11/1998
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG et al.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 6 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☒ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. _____

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☒ keine der Abb.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C07C237/10 C07C275/14 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07C C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
(1) X	TSUBOKAWA N ET AL: "Grafting of 'dendrimer-like' highly branched polymer onto ultrafine silica surface" REACTIVE & FUNCTIONAL POLYMERS,NL,ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS BV, Bd. 37, Nr. 1-3, 1. Juni 1998 (1998-06-01), Seiten 75-82, XP004127869 ISSN: 1381-5148	1-3,5,7, 9-11
Y	Seite 79 --- -/--	15-17

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

25. Oktober 2000

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

06/11/2000

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

de Nooy, A

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
(2) Y	TAM J P: "SYNTHETIC PEPTIDE VACCINE DESIGN: SYNTHESIS AND PROPERTIES OF A HIGH-DENSITY MULTIPLE ANTIGENIC PEPTIDE SYSTEM" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA,US,NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. WASHINGTON, Bd. 85, 1. August 1988 (1988-08-01), Seiten 5409-5413, XP002070407 ISSN: 0027-8424 das ganze Dokument	15-17
(3) X	US 5 624 711 A (SUNDBERG STEVEN A ET AL) 29. April 1997 (1997-04-29) Figur 10	1-3,5
4) X	TERRETT N K ET AL: "COMBINATIONRIAL SYNTHESIS - THE DESIGN OF COMPOUND LIBRARIES AND THEIR APPLICATION TO DRUG DISCOVERY" TETRAHEDRON,NL,ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, Bd. 51, Nr. 30, 24. Juli 1995 (1995-07-24), Seiten 8135-8173, XP000644580 ISSN: 0040-4020 Seite 8152, Figur 19 Seite 8156, Figur 25	1-3,5
(5) X	TSUBOKAWA N ET AL: "SURFACE-GRAFTING ONTO ARAMID POWDER: REACTION OF ACYL CHLORIDE GROUPS ON THE SURACE WITH FUNCTIONAL POLYMERS HAVING TERMINAL HYDROXYL OR AMINO GROUPS" POLYMERS FOR ADVANCED TECHNOLOGIES,GB,JOHN WILEY AND SONS, CHICHESTER, Bd. 5, Nr. 12, 1. Dezember 1994 (1994-12-01), Seiten 824-828, XP000485330 ISSN: 1042-7147 Seite 825, linke Spalte	1,5
(6) X	US 4 837 348 A (STOLOWITZ MARK L ET AL) 6. Juni 1989 (1989-06-06) Spalte 1, Zeile 49 - Zeile 64 --- -/--	1,5

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
(7) A	SWALI V ET AL: "SOLID-PHASE DENDRIMER SYNTHESIS AND THE GENERATION OF SUPER-HIGH-LOADING RESIN BEADS FOR COMBINATORIAL CHEMISTRY" JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, EASTON, US, Bd. 62, Nr. 15, 1997, Seiten 4902-4903, XP000901550 ISSN: 0022-3263 Seite 4903	1, 14
(8) A	--- KEVIN BURGESS ET AL: "Solid phase syntheses of Oligoureas" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, Bd. 119, Nr. 7, 19. Februar 1997 (1997-02-19), Seiten 1556-1564, XP002115550 ISSN: 0002-7863 Seite 1558 -Seite 1559	1, 14
(9) P, X	--- M BEIER ET AL: "Versatile derivatisation of solid support media for covalent bonding on DNA-microchips" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, OXFORD UNIVERSITY PRESS, SURREY, GB, Bd. 27, Nr. 9, 1999, Seiten 1970-1977, XP002145887 ISSN: 0305-1048 das ganze Dokument	1-17
(10) E	--- WO 00 02656 A (ALPER HOWARD ; ARYA PRABHAT (CA); JEFFERSON GARY (CA); BOURQUE SHEI) 20. Januar 2000 (2000-01-20) Seite 14 -Seite 15 -----	1-3, 5, 7, 9-11

THIS PAGE BLANK (USPTO)

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 1-3, 5 (teilweise)

Die Recherche ergab in ihrer Anfangsphase eine sehr große Zahl neuheitsschädlicher Dokumente. Diese Zahl ist so groß, daß sich unmöglich feststellen lässt, für was in der Gesamtheit der Patentansprüche eventuell nach zu Recht Schutz begehrt werden könnte (Art. 6 PCT).

Aus diesen Gründen erscheint die Durchführung einer sinnvollen Recherche und/oder die Erstellung eines vollständigen Recherchenberichtes bezüglich des gesamten Umfangs der oben genannten Patentansprüche unmöglich. Die durchgeführte Recherche und der Recherchenbericht für diese Ansprüche kann nur als vollständig gelten für die Beispiele des Antrags.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich

2. ☒ Ansprüche Nr. 1-3, 5 (teilweise)
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210

3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.

2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.

3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.

4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

nationales Aktenzeichen

PCT/DE 99/03692

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 5624711	A	29-04-1997	US	5919523 A	06-07-1999
US 4837348	A	06-06-1989	EP	0265495 A	04-05-1988
			WO	8706586 A	05-11-1987
WO 0002656	A	20-01-2000	KEINE		

THIS PAGE BLANK (USPTO)